



**Instituto Politécnico de Tomar**

**Escola Superior de Tecnologia de Tomar**

**Osmar Francim do Rosário Medina**

**Avaliação do potencial de inibição de germinação  
causado pelo Chumbo depositado em terrenos limítrofes  
às vias de comunicação rodoviárias**

Relatório de Estágio

Orientado por:

Manuel Rosa (Docente da ESTT - IPT)

Luís Santos (Docente da ESTT - IPT)

Relatório de Estágio apresentado ao Instituto Politécnico de Tomar para cumprimento dos  
requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Tecnologia Química







## Resumo

No passado, o consumo de combustíveis automóveis com Pb (chumbo), como aditivo antidetonante, era muito elevado. Apesar de hoje em dia a utilização deste ser proibida, os solos junto às estradas contêm Pb, proveniente da queima desses combustíveis nos automóveis. O Pb continua presente nos combustíveis, sobretudo no gasóleo, mas em quantidades bastantes inferiores, devendo-se tal à presença natural de Pb no crude e seus derivados e não devido à sua adição como anti-detonante. Este trabalho tem como objectivo determinar qual a concentração de Pb no solo mais baixa que já afecta a germinação e qual a concentração mais alta que ainda não afecta a germinação da *Lactuca sativa* (alface lisa). Para tal, procedeu-se à recolha de uma amostra de solo a uma distância de mais de 100 metros da via de comunicação e a montante da estrada em relação à direcção predominante dos ventos e portanto julgada isenta de contaminação das viaturas que circulam na estrada. Este solo isento de Pb foi contaminado artificialmente com várias soluções contendo concentrações conhecidas de Pb na forma de nitrato de Pb, sendo a concentração da solução de contaminação mais baixa de 0,1 mg/L e a mais alta 2000 mg/L. A absorção de Pb pelo solo era à partida desconhecida e por isso foi necessário determinar à *posteriori* por AAS (Atomic Absorption Spectroscopy) e por ICP-AES (Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometer) a concentração artificial nas amostras de solo artificialmente contaminadas. Foi recolhida também uma amostra de solo a 1m a jusante da orla da via na direcção predominante dos ventos, com o intuito de determinar o teor de Pb deste solo e testá-lo para perceber o nível de efeito deletério causado pelo Pb nele contido. Numa segunda fase, o solo contaminado foi usado num teste de germinação de *Lactuca sativa* com o objectivo de determinar as concentrações de Pb que começam a ter efeitos na germinação das plantas. Para isto foram utilizadas seis caixas de Petri para cada concentração (mais um branco), contendo cada uma vinte sementes, perfazendo um total de 2940 sementes utilizadas. Os parâmetros em estudos foram: o número de sementes germinadas e o respectivo comprimento de germinação. Concluiu-se que o efeito do Pb faz-se sentir no crescimento da *Lactuca sativa* para concentrações entre os 250 e os 400 mg/kg de solo e que o solo junto à estrada não contém Pb que provoque efeitos estatisticamente diferentes dos efeitos provocados por solo não contaminado.

**Palavras-chave:** solo, Pb, contaminação, germinação e *Lactuca sativa*.



## Abstract

In the past, car fuel consumption involved the use of high concentrations of Pb (lead), as an anti-knock additive. Although nowadays the use of lead is forbidden, soils along the roads still contain Pb, from the burning of these fuels in cars. Pb remains present in fuels, particularly in diesel fuel, though in less amounts, this is due to the natural presence of Pb in crude oil and its derivatives rather than as an additive. The current study aims to determine the concentration of Pb in soil at levels that already affect plant germination and identify the highest concentration that doesn't affect the germination of *Lactuca sativa* (plain lettuce). To do this, a sample of soil was collected at a distance of over 100 meters from the road in an upwind position in relation to the prevailing wind direction and therefore judged free from contamination of vehicles circulating on the road. The Pb-free soil was contaminated artificially with various solutions containing known concentrations of Pb in the form of nitrate, the contaminating solutions concentrations used ranged from 0.1 mg/L to 2000 mg/L. The Pb absorbed by the soil was unknown and so it was necessary to determine the artificial Pb concentration in the contaminated samples *a posteriori* by AAS (Atomic Absorption Spectroscopy) and ICP-AES (Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometer). It was also collected a soil sample at a distance of 1m of the road downstream from the prevailing wind direction in order to determine its Pb content and if that content presented statistic differences in the germination by comparison with the germination in a non-contaminated soil. In a second stage, the contaminated soil was used in the *Lactuca sativa* germination test in order to determine the concentrations of Pb that has effect on the germination of the plants. For this, we used six Petri boxes for each concentration (plus one for control), each containing twenty seeds, in a total of 2940 seeds used. The parameter studied was the length of germination. It was concluded that Pb has effects in the growth of *Lactuca sativa* for concentrations between 250 and 400 mg/kg of soil and the soil along the road does not contain more Pb than the background concentration and its effect in the growth of the germinations isn't statistically different from the effect of the uncontaminated control test.

**Keywords:** soil, Pb contamination, germination and *Lactuca sativa*.





## Agradecimentos

A execução deste trabalho só foi possível graças à contribuição de várias pessoas, que não posso deixar de referir.

Em primeiro lugar, o meu reconhecimento é dirigido ao Engenheiro Manuel Rosa, por ter aceitado orientar este trabalho, por toda a disponibilidade e meios colocados à minha disposição, aconselhamento e críticas construtivas que foram fundamentais para a elaboração do mesmo.

Agradeço ao professor José Antonio Egido da Faculdade de Ciências Agronómicas da Universidade de Salamanca pela sua disponibilidade e ajuda nas determinações com o aparelho de absorção atómica com chama.

A todos os professores e técnicos do Departamento de Engenharia Química e do Ambiente, agradeço a disponibilidade para ajudar no que fosse necessário.

Ao IPT, agradeço pela disponibilização dos meios e espaço necessário para a realização da parte experimental deste trabalho.

Quero também agradecer a todos os meus amigos, colegas e família que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, e de todo o meu percurso académico.



## Índice

<b>1) INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2) REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>3</b>
2.1) CHUMBO (Pb).....	3
2.1.1) <i>História</i> .....	3
2.1.2) <i>Características</i> .....	4
2.1.3) <i>Ocorrência e obtenção</i> .....	5
2.1.4) <i>Toxicologia</i> .....	7
2.1.4.1) <i>Vias de exposição</i> .....	7
2.1.4.2) <i>Toxicocinética</i> .....	7
2.1.4.2.1) <i>Absorção</i> .....	8
2.1.4.2.2) <i>Distribuição</i> .....	9
2.1.4.2.3) <i>Eliminação</i> .....	10
2.1.4.3) <i>Efeitos tóxicos</i> .....	12
2.1.5) <i>Precauções</i> .....	13
2.1.6) <i>Aplicações</i> .....	13
2.1.7) <i>Pb como aditivo na gasolina</i> .....	14
2.2) SOLO.....	16
2.2.1) <i>Algumas Definições</i> .....	16
2.2.2) <i>Rochas</i> .....	18
2.2.3) <i>Origem e formação dos solos</i> .....	20
2.2.4) <i>Classificação dos solos quanto à granulometria</i> .....	22
2.2.5) <i>Morfologia</i> .....	23
2.2.6) <i>Funções do solo</i> .....	24
2.3) CHUMBO NOS SOLOS.....	24
2.3.1) <i>Fontes de contaminação do solo por chumbo</i> .....	24
2.3.2) <i>Mobilidade do Pb</i> .....	25
2.3.3) <i>Chumbo na flora e fauna</i> .....	27
2.3.3.1) <i>Chumbo nas plantas</i> .....	27
2.3.3.2) <i>Chumbo nos animais e no Homem</i> .....	30
2.3.4) <i>Valores de referência e níveis de intervenção</i> .....	34
2.3.5) <i>Descontaminação do chumbo presente no solo</i> .....	35
2.4) MÉTODOS ESTATÍSTICOS.....	36
2.4.1) <i>Exemplo de determinação de pontos final NOEC e LOEC sem o auxílio de programas informáticos de estatística</i> .....	36

2.4.1.1) Prova à normalidade de erros de Shapiro-Wilk.....	38
2.4.1.2) Prova à homogeneidade das variâncias de Bartlett ou prova à homogeneidade de variâncias de Levene.....	40
2.4.1.3) Análise de variância (ANOVA).....	41
2.4.1.4) Prova de comparação múltipla de Dunnett.....	43
<b>3) TRABALHO LABORATORIAL.....</b>	<b>45</b>
3.1) DESCRIÇÃO DO TRABALHO EXPERIMENTAL.....	45
3.2) MATERIAL E MÉTODOS .....	45
3.2.1) Amostras e sua recolha.....	45
3.2.2) Tratamento das amostras.....	49
3.2.3) Determinação da granulometria das amostras de solo.....	50
3.2.4) Contaminação das amostras .....	52
3.2.5) Determinação do chumbo adsorvido pelo solo por ICP-AES e por AAS.....	55
3.2.6) Preparação das sementeiras .....	62
<b>4) APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DE RESULTADOS .....</b>	<b>67</b>
4.1) CLASSIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS DE SOLO QUANTO À GRANULOMETRIA.....	67
4.2) EFEITOS ECOTOXICOLÓGICOS NAS GERMINAÇÕES PELA ACÇÃO DO Pb .....	70
4.2.1) Teste de normalidade de Shapiro-Wilk.....	72
4.2.2) Teste Leven's à homogeneidade de variâncias .....	82
4.2.3) Análise de variância (ANOVA) .....	82
4.2.4) Prova de comparações múltiplas de Dunnett .....	83
<b>5) CONCLUSÃO.....</b>	<b>87</b>
<b>6) BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>89</b>
<b>7) ANEXOS.....</b>	<b>99</b>

## Índice de Figuras

Figura 1 – Imagem de Pb (fonte – Wikipedia, 2015) .....	4
Figura 2 – Toxicocinética do Pb no organismo humano (Figura adaptada de Paoliella e Chasin, 2001).....	11
Figura 3 – Tetra-etil chumbo (fonte – wikipedia, 2014) .....	14
Figura 4 - Gráfico que mostra a concentração do Pb no ar no Reino Unido. A proibição do uso de compostos de Pb como antidetonantes ocorreu em 1989 (fonte: Annual Report for 2012 on the UK Heavy Metals Monitoring Network).....	15
Figura 5 - imagem ilustrativa de um pedon e de um perfil do solo e seus horizontes. (fonte - expertsmind).....	17
Figura 6 - ciclo sedimentar. (fonte – Correia, 2011). .....	19
Figura 7 - composição dos solos quanto ao tamanho dos grãos. (fonte: imagem adaptada de sebenta de contaminação e descontaminação de solos, Stefan Rosandahl) .....	22
Figura 8 - Teores de Pb no perfil de solo, extraídos pelas soluções de DTPA ( <b>A</b> , <b>C</b> ) e Mehlich-3 ( <b>B</b> , <b>D</b> ), em amostras coletadas perto ( <b>A</b> , <b>B</b> ) e distante ( <b>C</b> , <b>D</b> ) da fonte geradora (indústria produtora de lingotes de Pb), nas quatro direções (N, S, E, O). (fonte: Abreu <i>et al.</i> , 1998).....	26
Figura 9 – Exemplo de bioacumulação (fonte – Cardoso, 2015) .....	31
Figura 10 – Imagem da zona de recolha das amostras do solo (fonte – Google Earth) .	47
Figura 11 – Local da recolha da amostra de solo junto à estrada (fonte: o autor).....	48
Figura 12 – Local da recolha da amostra de solo não contaminado (fonte: o autor).....	49
Figura 13 – Peneiro automático (fonte: o autor).....	51
Figura 14- Peneiro automático, em que se pode observar solo num dos seus peneiros. (fonte: o autor). .....	51
Figura 15 - Pesagem do solo retido num dos peneiros. (fonte: o autor). .....	52
Figura 16 - Copos com respectivos volumes de solução mãe, para obtenção de soluções com várias concentrações, resultantes de diluições da solução mãe. (fonte: o autor)....	53
Figura 17 - Solo durante o processo de contaminação por contacto com soluções de Pb. (fonte: o autor) .....	54
Figura 18 – Solo após decantação pronto para secagem na estufa (fonte: o autor).....	55
Figura 19 – Espectrofotómetro de absorção atómico usado na análise (fonte: o autor). 57	

Figura 20 - Erlenmeyer com presença dos fumos castanhos. (fonte: o autor) .....	59
Figura 21 - Aquecimento da solução após a adição do HCl e libertação de cloro. (fonte: o autor) .....	60
Figura 22 - Filtração após digestão para extracção do Pb. (fonte: o autor).....	61
Figura 23 - Filtração após digestão para extracção do Pb. (fonte: o autor).....	61
Figura 24 – Sementeira e disposição das sementes (fonte: o autor).....	63
Figura 25 – Sementeira (fonte: o autor) .....	63
Figura 26 – Sementeiras na incubadora (fonte: o autor) .....	64
Figura 27 - Contagem das sementes germinadas e sua medição. (fonte: o autor) .....	65
Figura 28 – Medição de sementes germinadas (fonte: o autor) .....	65
Figura 29 - Gráfico das percentagens de solo em função da sua granulometria. (fonte: o autor). .....	67
Figura 30 - histograma de frequências para os tamanhos dos 21 grupos de concentrações (Relatório de resultados do <i>output</i> do SPSS) .....	74
Figura 31 – Gráfico Q-Q de distribuição de normalidade para os tamanhos dos 21 grupos de concentração (Relatório de resultados do <i>output</i> do SPSS) .....	75
Figura 32 - Diagrama de caixa da distribuição dos tamanhos dos 21 grupos de concentração (Relatório de resultados do <i>output</i> do SPSS). .....	76
Figura 33 – Gráfico com as germinações e respectivos tamanhos.....	77
Figura 34 - Histograma de frequências para os tamanhos dos 16 grupos de concentrações (Relatório de resultados do <i>output</i> do SPSS) .....	79
Figura 35 - Gráfico Q-Q de distribuição de normalidade para os tamanhos dos 16 grupos de concentração (Relatório de resultados do <i>output</i> do SPSS). .....	80
Figura 36 - Diagrama de caixa da distribuição dos tamanhos dos 16 grupos de concentração (Relatório de resultados do <i>output</i> do SPSS). .....	81

## Índice de Tabelas

Tabela 1 – Características principais do Pb .....	5
Tabela 2 – Tabela do ADME (absorção, distribuição, metabolismo, eliminação) do Pb (tabela adaptada de Sousa et al., 2014).....	12
Tabela 3 - Classes granulométricas das partículas do solo. (fonte: sebenta de Contaminação e Descontaminação de Solos compilada pelo Prof. Stefan Rosendahl) .....	23
Tabela 4 – Pb no solo, níveis de referência e de intervenção .....	34
Tabela 5 – Dados experimentais do ensaio de inibição do crescimento da raiz <i>Lactuca sativa</i> onde se apresentam os valores do crescimento da germinação em milímetros e, em percentagem, a concentração do contaminante que causa efeitos deletérios. ....	37
Tabela 6 – Ordenação das observações experimentais e cálculos da elongação média e da soma do quadrado dos erros .....	38
Tabela 7 - Cálculo do coeficiente <i>b</i> com a utilização do coeficiente <i>a</i> tabelado.....	39
Tabela 13 – Resultado do teste de normalidade Shapiro-Wilk para os tamanhos obtidos nos grupos de concentração estudados (Relatório de resultados do <i>output</i> do SPSS).....	72
Tabela 14 - Estatística descritiva dos tamanhos obtidos para os 21 grupos de concentrações de Pb (Relatório de resultados do <i>output</i> do SPSS).....	73
Tabela 15 - Resultado do teste de normalidade Shapiro-Wilk para os tamanhos obtidos nos 16 grupos (Relatório de resultados do <i>output</i> do SPSS).....	77
Tabela 16 - Estatística descritiva dos tamanhos obtidos para os 16 grupos de concentrações de Pb (Relatório de resultados do <i>output</i> do SPSS).....	78
Tabela 17 - Resultados do teste estatístico Leven's para aferição da homogeneidade de variâncias obtido por SPSS para os 16 primeiros grupos de concentrações. ....	82
Tabela 18 - Análise de variância para os 16 grupos estudados (Relatório de resultados do <i>output</i> do SPSS).....	83
Tabela 19 - – Prova de comparação múltipla de Dunnett (Relatório de resultados do <i>output</i> do SPSS) .....	84
Tabela 20 – Concentração de Pb no solo colhido a 1 m da estrada e tamanho médio das germinações nele efectuadas (Relatório de resultados do <i>output</i> do SPSS).....	85





## 1) Introdução

Desde os dias da sociedade primitiva que o Homem tem utilizado os recursos da Terra para a sua sobrevivência e melhoramento das suas condições de vida, mas nem sempre o tem feito da forma mais correcta e segura, às vezes por falta de conhecimento e outras apenas por razões económicas ou de facilitismos. Com o passar do tempo o conhecimento e a consciencialização para os problemas ambientais tem aumentado, e como tal, têm sido tomadas medidas e instituídas regras para remediar ou diminuir estes problemas que para o qual o Homem muito contribui-o.

Os metais pesados emitidos para a natureza por acção humana são um dos problemas ambientais mais importantes, mas que hoje em dia já é bastante estudado. O Pb foi dos metais pesados mais problemáticos. No passado a sua vasta utilização nos combustíveis automóveis, como aditivo antidetonante, o que naturalmente provocou um aumento da concentração do Pb junto das estradas. Hoje em dia o uso de combustível automóvel com Pb é proibido em Portugal (Diário da República - 1.<sup>a</sup> Série A, N<sup>o</sup> 126, de 31.05.1999) mas o Pb emitido no passado continua presente nos solos, como também, este continua a ser emitido pela queima de combustíveis automóveis embora em menores quantidades, uma vez que este faz parte dos seus constituintes naturais. O Pb oriundo da queima dos motores de automóvel encontra-se principalmente na camada superior do solo, o que acontece devido à sua baixa capacidade de movimentação deste no perfil do solo, sendo que esta camada é a utilizada pelas plantas. Por sua vez, a absorção pelas plantas que se encontram nestes solos irá provocar a ingestão indirecta de Pb por parte de animais e/ou Homem. Por estas razões, já foram efectuados estudos sobre os níveis de Pb nas plantas e assim obter uma base de valores que possam ser ingeridos por animais e o próprio Homem, como também a revisão das quantidades aceitáveis de Pb ingerido e, valores de referência para Pb nos solos, definindo assim o limite até ao qual a sua concentração não seja considerada contaminação.

O "Joint Expert Committee on Food Additives" em 1972 estabeleceu como ISTP (ingestão semanal tolerada provisória) de Pb o valor de 50 µg por kg de peso corporal, para adultos, e 25 µg por kg de peso corporal, para crianças. Em 1993, foi adoptado que para todas as faixas etárias a ISTP seria de 25 µg por kg de peso corporal (Okada *et al.*, 1997).

Contudo os valores legislados de Pb nos diversos produtos e alimentos varia de país para país, no Brasil, em 1990, o Ministério da Saúde reviu os níveis de tolerância para Pb em alimentos, diminuiu os níveis aceitáveis de Pb de 8,0 mg/kg para 0,8 mg/kg para a maioria dos alimentos, por exemplo para o leite o nível é de 0,05 mg/kg. Esta legislação apresenta o mesmo limite da legislação holandesa, já na Dinamarca e Alemanha a legislação é mais restritiva, com limites de 0,02 e 0,03 mg/kg respectivamente (Okada *et al.*, 1997).

Neste trabalho é pretendido identificar quais as concentrações de Pb no solo que alteram a germinação e crescimento normal das plantas, e se as amostras de solo recolhidas junto de uma estrada, se encontram dentro da gama das concentrações de Pb que de alguma forma tenham efeito na germinação e crescimento de plantas, aferindo desta forma se esses solos são próprios para cultivo ou como pastagens para animais.

## **2) Revisão bibliográfica**

### **2.1) Chumbo (Pb)**

#### **2.1.1) História**

O Chumbo com símbolo químico Pb, é uma palavra de origem anglo-saxónica, (a origem da palavra inglesa “plumbando” é a palavra latina para Pb, plumbum), é conhecido desde tempos remotos. (Russell, 1994).

Acredita-se que é utilizado pelo homem há já 7000 anos, sendo um dos primeiros metais a ser trabalhado pelo Homem. A peça de Pb mais antiga que se conhece é uma estatueta do templo de Osíris, está no Museu Britânico e data de 3800 a.C.. (ICZ, 2015).

O modo como os povos antigos extraíam o Pb dos seus minerais não é bem conhecido. No entanto, existem vestígios de fornalhas muito rudimentares, feitas de pedra, onde se supõe que esses povos aqueciam os minérios de Pb, com fogueiras que queimavam madeira e carvão, para extrair o elemento. Existem evidências de que os Chineses, por volta de 3000 a.C., já produziam Pb metálico e de que os Fenícios tinham explorações perto de depósitos em Espanha, em 2000 a.C. No século V a.C. os Romanos fizeram uma exploração extensiva dos depósitos de Pb em toda a Península Ibérica (Nautilus, 1999). Encanamentos de Pb com as insígnias de imperadores romanos, de 300 a.C, ainda estão em serviço (ICZ, 2015).

No período de 700 d.C. a 1000 d.C. as minas alemãs de Pb e prata, no vale do Reno e das montanhas de Hartz, eram muito importantes, tal como as da Saxónia, Silésia e Boémia no século XIII. No século XVII, as fundições de Pb floresceram na Grã-Bretanha, com especial realce para aquelas localizadas em Gales e Derbyshire. (Nautilus, 1999; ICZ, 2015).

### 2.1.2) Características

O Pb é um metal pesado, com coloração branca-azulada mas que adquire uma tonalidade acinzentada quando exposto ao ar. Este é macio, altamente maleável, com baixa condutividade elétrica e altamente resistente à corrosão. É relativamente resistente ao ataque dos ácidos, sulfúrico e clorídrico, porém se dissolve lentamente em ácido nítrico. O Pb é um anfótero (pode comportar-se como ácido ou como base), já que forma sais de Pb dos ácidos, assim como sais metálicos do ácido plúmbico. O Pb forma muitos sais, óxidos e compostos organolépticos (ICZ, 2015).



Figura 1 – Imagem de Pb (fonte – Wikipedia, 2015)

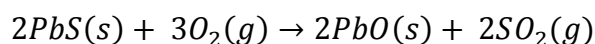
Tabela 1 – Características principais do Pb

<b>Nome</b>	<b>Pb</b>
<b>Símbolo</b>	Pb
<b>Número atômico</b>	82
<b>Grupo, período</b>	14(IVA), 6
<b>Densidade</b>	11340Kg/m <sup>3</sup>
<b>Dureza</b>	1,5
<b>Massa atômica</b>	207,2u
<b>Raio atômico</b>	154 pm
<b>Configuração electrónica</b>	[Xe] 4f <sup>14</sup> 5d <sup>10</sup> 6s <sup>2</sup> 6p <sup>2</sup>
<b>Ponto de fusão</b>	327,4°C
<b>Ponto de ebulição</b>	1740°C

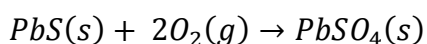
### 2.1.3) Ocorrência e obtenção

O Pb é relativamente abundante na crosta terrestre, tendo uma concentração média entre os 10 e 20 mg/Kg. As suas maiores fontes naturais são as rochas magmáticas, emissões vulcânicas, intemperismo geoquímico. (Paoliello e Chasin, 2001). Apesar de a sua existência ocorrer naturalmente, o Pb encontra-se normalmente combinado com outros elementos formando compostos de Pb em formas bastante estáveis que permitem a sua acumulação ambiental. O Pb pode existir nas formas orgânica e inorgânica. O Pb inorgânico corresponde ao Pb encontrado no solo, tintas velhas, canalizações, munições, cerâmicas, joias e outros produtos. Trata-se da forma predominante em que o Pb se encontra no ambiente, isto em parte, devido à vasta utilização deste metal, em utensílios pelo Homem que por vezes os descarta na natureza sem os devidos cuidados. O Pb orgânico é a forma de Pb que, apesar de menos comum, pode ser mais tóxica devido à quantidade que o corpo consegue absorver e este é absorvido quando em contacto com a pele. Era utilizado geralmente na gasolina (ATSDR, 2007).

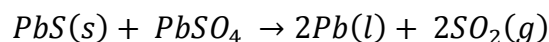
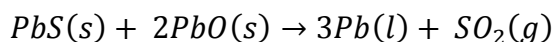
O Pb raramente é encontrado no seu estado elementar, seu único mineral importante é a galena, PbS, que por sua vez é obtido industrialmente por diversos métodos. Um deles é a ustulação (processo que consiste em aquecer um sulfureto na presença de oxigênio, transformando-o assim num óxido) do mineral (Nestor Cezar Heck; Russell, J. B., 1994):



Parte do PbS é convertido a sulfato de Pb nesse processo:



À mistura dos produtos (PbO e PbSO<sub>4</sub>) é então adicionado mais PbS e novamente aquecida na ausência de ar:



O Pb resultante deste processo é bastante impuro e por isso deve ser purificado para remover muitos contaminantes metálicos (Russell, J. B., 1994).

Existem outros minerais com menos relevância como a anglesite (PbSO<sub>4</sub>) e a cerussite (PbSO<sub>3</sub>). (Paoliello e Chasin, 2001)

Os principais depósitos de minérios de Pb estão localizados nos EUA, Austrália, Canadá, Peru, México, Bolívia, Argentina, África do Sul, Zâmbia, Espanha, Suécia, Alemanha, Itália e Sérvia, sendo os principais produtores os Estados Unidos, Austrália, Canadá, Peru e México (ICZ, 2015).

#### **2.1.4) Toxicologia**

O Pb, como muitos dos metais pesados, é um elemento tóxico. Alguns historiadores pensam que o declínio do Império Romano ocorreu, parcialmente, devido a doenças, infertilidade, e morte por causa do envenenamento por Pb. Parece que a aristocracia romana fez grande uso do Pb em canalizações de água e utensílios de cozinha. Mais recentemente, alvaiade de Pb ou hidroxicarbonato de chumbo,  $\text{Pb(OH)}_2(\text{CO}_3)_2$ , serviu como pigmento branco em tintas e hoje em dia há crianças que sofrem com a sua toxicidade depois de ingerirem pedaços de madeira, brinquedos e outras peças nas quais foi utilizada esta tinta (Russell, J. B., 1994).

##### **2.1.4.1) Vias de exposição**

A exposição ao Pb pode ocorrer de diversas formas, sejam elas por via oral, cutânea, ou por inalação, sendo que a forma principal de contaminação por Pb na população em geral é por via da ingestão, que é de maior risco para crianças. A via cutânea apenas tem importância na exposição ao Pb orgânico. No entanto, os efeitos tóxicos do Pb são os mesmos independentemente da via de exposição (Paoliello e Chasin, 2001).

##### **2.1.4.2) Toxicocinética**

Podemos dividir a toxicocinética em três etapas (Paoliello e Chasin, 2001):

- Absorção
- Distribuição
- Eliminação

#### **2.1.4.2.1) Absorção**

A absorção do Pb varia em função de diversos factores, como idade, dose, duração da exposição, estado de saúde e nutricional, como também o estado físico e químico do metal (Paoliello e Chasin, 2001). Por sua vez a absorção pode ocorrer de três diferentes formas:

- **Pulmonar**

A absorção do Pb existente na atmosfera para o sangue envolve dois processos: a deposição das partículas de Pb do ar no trato respiratório e a absorção para a circulação. As partículas são depositadas maioritariamente nos sacos alveolares dos pulmões. Fumos e vapores gerados por diversas operações, nas quais os metais são cortados ou aquecidos são de pequenas dimensões podendo assim ser absorvidos de forma directa. A absorção depois da deposição varia conforme a solubilidade dos compostos de Pb e da toxicidade inerente para os macrófagos e cílios dos pulmões (Paoliello e Chasin, 2001).

No Homem, a deposição do Pb presente na atmosfera nas vias respiratórias está na faixa de 30-50%, variando com os tamanhos das partículas e taxa de ventilação. Taxas elevadas de deposição podem ocorrer com partículas maiores, no entanto essa deposição ocorre no trato respiratório superior, podendo eventualmente ser deslocadas para o trato gastrointestinal. A via respiratória constitui a principal via de absorção do Pb na exposição ocupacional. Cerca de 20-40% do Pb que entra no trato respiratório permanece no organismo, sendo que a maior parte é removida para o trato gastrointestinal através dos movimentos ciliares. A quantidade que permanece nos pulmões é rapidamente absorvida, independentemente da forma química do metal (Paoliello e Chasin, 2001).

- **Oral**

A taxa de absorção gastrointestinal é influenciada por diversos factores como a dieta, estado nutricional e forma química do metal. Por exemplo, se ingerido em jejum a taxa de absorção do Pb é maior do que se ingerido com alimentos. No caso de adultos e



crianças mais velhas, que não sofrem exposição ocupacional, o Pb absorvido pelo trato gastrointestinal é proveniente da ingestão deste em alimentos, bebidas e solo ou poeiras (Paoliello e Chasin, 2001).

Devido à tendência das crianças pequenas levarem as mãos e objectos à boca, a absorção gastrointestinal de Pb proveniente de poeiras e solos tem uma grande importância. Segundo vários autores, estes demonstraram que a absorção do Pb, via solos e poeiras contaminadas, é fonte significativa de exposição ao metal, estando relacionado com aumento dos níveis de plumbemia em crianças (Paoliello e Chasin, 2001).

Nas crianças a absorção do Pb ingerido é de 50% enquanto nos adultos é de apenas 5-10% (Sousa et al., 2014).

- **Cutânea**

A taxa de absorção dérmica é bastante reduzida, quando se trata de Pb inorgânico, tornando esta via muito menos significativa do que as vias pulmonar e oral (Paoliello e Chasin, 2001). Somente os compostos orgânicos de Pb são capazes de penetrar através da pele íntegra. Segundo Tsalev e Zaprianov (1985), os compostos de Pb tetra alquila (Pb tetra etilo, etc.), por exemplo, são absorvidos rapidamente pela pele (Moreira e Moreira, 2004).

Estudos em animais de experimentação, indicam que os compostos tetralquilados do Pb são extensivamente e rapidamente absorvidos pela pele de coelhos e ratos (Paoliello e Chasin, 2001).

#### **2.1.4.2.2) Distribuição**

Uma vez absorvido, a distribuição do Pb ocorre de forma similar, independentemente da via de absorção. A distribuição do Pb no organismo inicialmente depende da taxa de distribuição, através do fluxo sanguíneo para vários órgãos e tecidos. O

Pb é distribuído entre os tecidos moles (sangue, fígado, rins, entre outros) e rígidos (ossos e dentes). Os ossos podem ser afectados adversamente pelo Pb, mas também servem como os maiores reservatórios deste no organismo. Porém, o Pb não é distribuído de forma homogênea no organismo, tendo por consequência diferentes tempos de meia-vida. O sangue é considerado o mais lábil, com uma vida de cerca de 36 dias, por outro lado nos ossos, que são o compartimento mais estável para o Pb, tem uma meia-vida de aproximadamente 27 anos. Nos tecidos moles, o Pb apresenta uma meia-vida de cerca de 40 dias (Paoliello e Chasin, 2001).

Em condições constantes, o Pb no sangue encontra-se nos eritrócitos, cerca de 96%. A hemoglobina fetal ao que indica, tem uma maior afinidade ao metal do que a hemoglobina do adulto. Aproximadamente 94% da carga corporal do Pb encontra-se nos ossos, em adultos. Em crianças esta percentagem é inferior, cerca de 73% (Paoliello e Chasin, 2001).

A mobilização de Pb dos ossos para outros compartimentos sanguíneos, em mulheres grávidas e lactantes, é de grande importância devido ao risco que constitui para o feto, pois o Pb é transferido rapidamente da mãe para o feto em desenvolvimento, sendo a concentração deste no sangue do cordão umbilical de 85-90% da concentração do sangue materno (Paoliello e Chasin, 2001).

#### **2.1.4.2.3) Eliminação**

O Pb é eliminado pela urina e fezes do organismo, e todo o Pb não absorvido pelo trato gastrointestinal proveniente da dieta assim como o Pb proveniente do ar, que também tenha sido ingerido, é excretado nas fezes. A idade e características da exposição, influenciam a quantidade eliminada de Pb, por meio de qualquer via, além de ser dependente da espécie (Paoliello e Chasin, 2001).

Sob condições constantes de exposição a baixas concentrações. A excreção urinária é de cerca de 70% da dose absorvida. Cerca de 60% do Pb absorvido é retido pelo organismo e 40% excretado (Paoliello e Chasin, 2001).

O leite materno pode ser outra via de eliminação do Pb, existindo assim uma correlação entre a concentração do metal no leite e os níveis de plumbemia maternos. A concentração do Pb no leite materno varia entre 10-30% da concentração materna de plumbemia (Paoliello e Chasin, 2001).

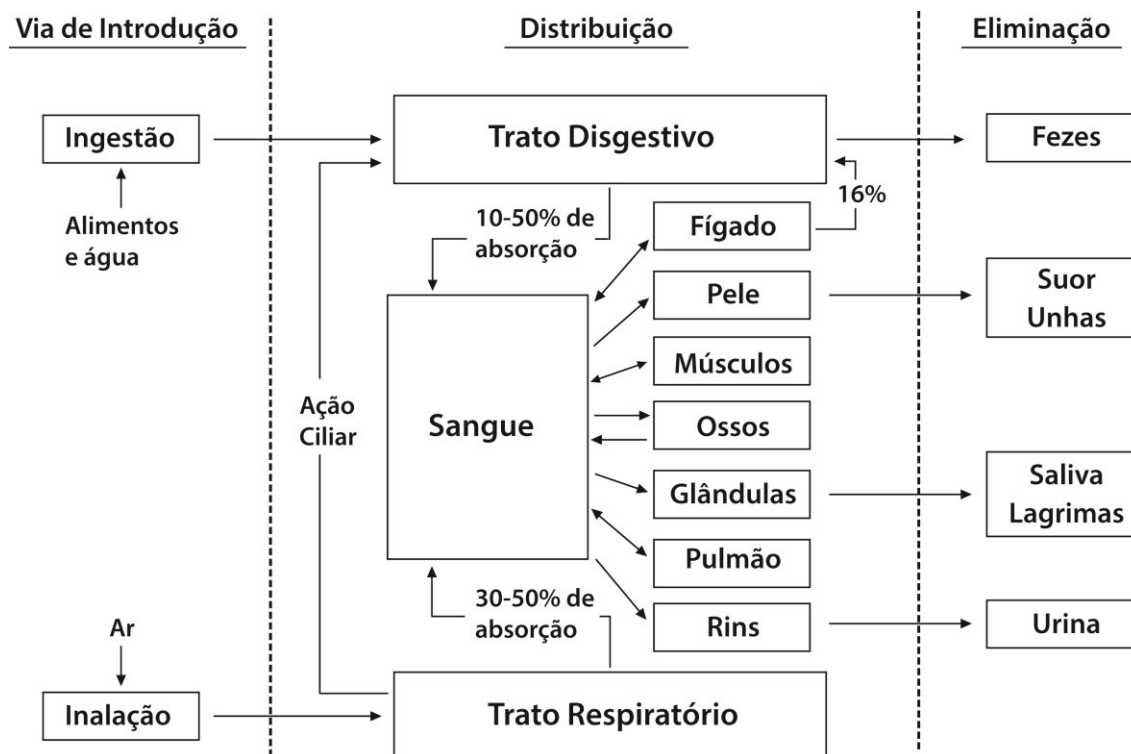


Figura 2 – Toxicocinética do Pb no organismo humano (Figura adaptada de Paoliella e Chasin, 2001)

Tabela 2 – Tabela do ADME (absorção, distribuição, metabolismo, eliminação) do Pb (tabela adaptada de Sousa et al., 2014)

Metabolismo do Pb		
Absorção	Distribuição	Eliminação
		Tempos de semi-vida
% Absorvida		
Crianças - 40-50%	<b>Sangue</b>	⇒ 25 – 30 dias
Adultos – 5-10%		
	<b>Tecidos moles</b>	⇒ 40 dias
Aumenta em casos de	<b>Tecidos mineralizados</b>	⇒ 25 anos
Anemia		
Hipocalcemia		
Mal nutrição		

### 2.1.4.3) Efeitos tóxicos

Sendo o Pb um metal tóxico, este pode causar vários efeitos indesejáveis, tais como:

- Perturbação da biossíntese da hemoglobina e anemia;
- Hipertensão e doença cardiovascular;
- Danos aos rins;
- Danos nos fetos;
- Alterações no sistema nervoso;
- Danos ao cérebro;
- Diminuição da fertilidade do homem;
- Diminuição da aprendizagem em crianças;
- Modificações no comportamento das crianças, como agressão, impulsividade e hipersensibilidade.

### **2.1.5) Precauções**

Sendo o Pb e os seus compostos de elevada toxicidade, e tendo o homem feito no passado uma utilização deste de forma descuidada, são comuns ações de prevenção e descontaminação ambiental.

Materiais que contenham Pb não podem ser depositados no ambiente, têm que ser reciclados. Por outro lado, esta reciclagem apresenta desafios, uma vez que o Pb geralmente está associado a dispositivos que têm de ser separadas dos restantes componentes antes da fundição do metal, como é o caso das baterias. Estes processos produzem emissões e efluentes com Pb cuja descontaminação é obrigatória (ICZ, 2015).

Apesar de hoje em dia o Pb não ser usado de forma descuidada, ainda existem peças e materiais ricos neste elemento, tornando necessários alguns cuidados na no seu manuseamento, bem como: inibição de ingestão, inalação ou mesmo contacto cutâneo no caso do Pb orgânico.

### **2.1.6) Aplicações**

O Pb é um dos metais mais utilizados e se a sua utilização for feita de forma correta, este pode ser bastante útil. A sua utilização é feita de diversas formas sendo as seguintes algumas delas:

- Fabricação de baterias de Pb
- Forros de cabos
- Elementos de construção civil
- Pigmentos
- Soldas
- Munições
- Aditivo da gasolina
- Como blindagem contra radiação

- Agente redutor do desgaste nos lubrificantes
- Diversas ligas metálicas

### 2.1.7) Pb como aditivo na gasolina

Uma grande quantidade de Pb foi usada na síntese de tetra-etil chumbo,  $(C_2H_5)_4Pb$ . Este era usado como aditivo antidetonante na gasolina, promovendo assim a sua queima regular e homogênea. A maior parte do chumbo é expelido pelo escape, contribuindo assim para a poluição ambiental. Os compostos de chumbo envenenam os catalisadores (destroem sua eficiência) utilizados nos conversores catalíticos dos novos automóveis e, portanto, foram introduzidas alternativas para o aumento do índice de octanas como é o caso do estanho ou do etanol. Atualmente a quantidade usada deste composto, tetra-etil chumbo, não é muito elevada (Russell, J. B., 1994). Em Portugal é proibida a venda de gasolina com Pb desde 1 de julho de 1999 (Diário da República - 1.<sup>a</sup> Série A, N<sup>o</sup> 126, de 31.05.1999).

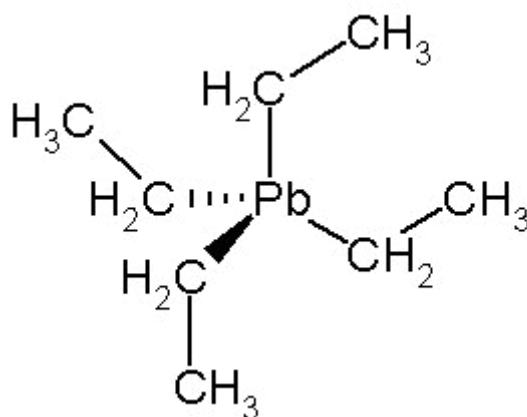


Figura 3 – Tetra-etil chumbo (fonte – wikipedia, 2014)

Devido à proibição da utilização de Pb como aditivo nos combustíveis automóveis, os níveis deste no ar tem vindo a diminuir desde os valores registados na década de 80, que foi onde este atingiu o seu pico. Contudo, apesar do Pb já não ser utilizado como aditivo nos combustíveis automóveis, este continua presente na atmosfera, mesmo que em quantidades muito inferiores, o que vai de encontro com o relatório anual de 2012 da NPL (National Physical Laboratory) (Brown *et al.*, 2013).

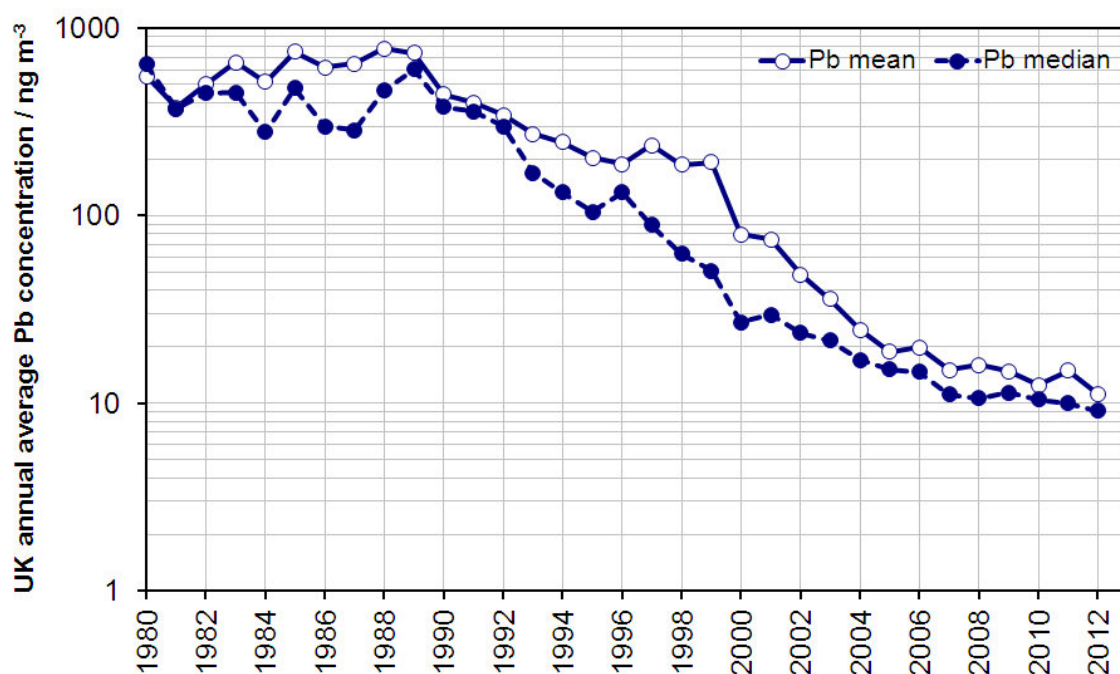


Figura 4 - Gráfico que mostra a concentração do Pb no ar no Reino Unido. A proibição do uso de compostos de Pb como antidetonantes ocorreu em 1989 (fonte: Annual Report for 2012 on the UK Heavy Metals Monitoring Network).

Por sua vez o Pb ainda presente na atmosfera é também proveniente da queima de combustíveis automóveis, sendo este Pb inorgânico, que existe naturalmente no crude. Das emissões resultantes da queima do diesel, mais de 40 substâncias estão listadas pelo U.S. EPA (United States Environmental Protection Agency) como poluentes perigosos do ar e pelo ARB (Air Resources Board) como contaminantes tóxicos do ar, sendo que quinze dessas substâncias estão listadas pelo IARC (International Agency for Research on Cancer) como substâncias cancerígenas ou como prováveis ou possíveis substâncias cancerígenas para humanos, entre esta podemos encontrar o Pb inorgânico (Air Resources Board, 2008; EPA, 2002; Limppmann e Morton, 2009).

## 2.2) Solo

O Solo é um corpo de material não consolidado que cobre a superfície terrestre emersa. Nos solos encontram-se varias esferas: a atmosfera (ar e água proveniente da precipitação), a litosfera (partículas rochosas não alteradas e alteradas) e a biosfera (plantas e animais) (Rosendahl, 2010).

### 2.2.1) Algumas Definições

**Solo** – segundo o vocabulário de Estradas e Aeródromos do Laboratório Nacional de Engenharia Civil (LNEC), é definido como o “conjunto natural de partículas minerais que podem ser separadas por agitação na água; os vazios entre as partículas contêm água e ar, separada ou conjuntamente” (Fernandes, 1994). Outra definição é que “solo é toda a ocorrência natural de depósitos brandos ou moles, cobrindo um substrato rochoso e que é produzida por desintegração e decomposição física e química das rochas, podendo ou não conter matéria orgânica” (Mineiro, 1978).

No entanto, o solo é visto de diferentes formas por áreas de estudo/trabalho distintas. Para um engenheiro agrônomo o solo é a camada na qual pode-se desenvolver vida (vegetal e animal). Para um engenheiro civil, sob o ponto de vista da mecânica dos solos, este é um corpo passível de ser escavado, sendo utilizado dessa forma como suporte para construções ou material de construção. Para um biólogo, através da ecologia e da pedologia, o solo infere sobre o ciclo biogeoquímico dos nutrientes minerais e determina os diferentes ecossistemas e habitats dos seres vivos.

**Geologia** - palavra que deriva do grego *Geo* = Terra a *Logos* = ciência, é a ciência da Terra, sendo a Petrologia e a Mineralogia ramos desta, que por sua vez estudam as rochas e minerais respectivamente. As rochas são constituídas por minerais. No solo há minerais provenientes das rochas (minerais primários) e minerais formados a partir da alteração dos minerais primários (minerais secundários) (Muggler et al., 2005).



**Pedologia** - é um nome erudito construído pela adição de *Pedon* (lugar ou solo onde se pisa) a *Logos* (ciência). Consiste no estudo do Solo e é considerada uma ciência, pois estuda “a massa de elementos agregados, geralmente friáveis, que encontra-se na superfície da parte emersa da crosta terrestre, resultante das acções da atmosfera e da biosfera sobre a litosfera, durante um tempo determinado”, segundo G. Aubert, o que mostra que a Pedologia tem um objecto, próprio de estudo (solo), que apresenta características próprias que o distingue dos outros elementos da natureza, não sendo portanto um ramo da Geologia (Muggler et al., 2005; Neto, 1982).

**Perfil de um solo** - é definido como sendo um corte vertical de um solo. Este abrange todas as camadas (horizontes), desde a superfície até ao material não alterado (Rosendahl, 2010).

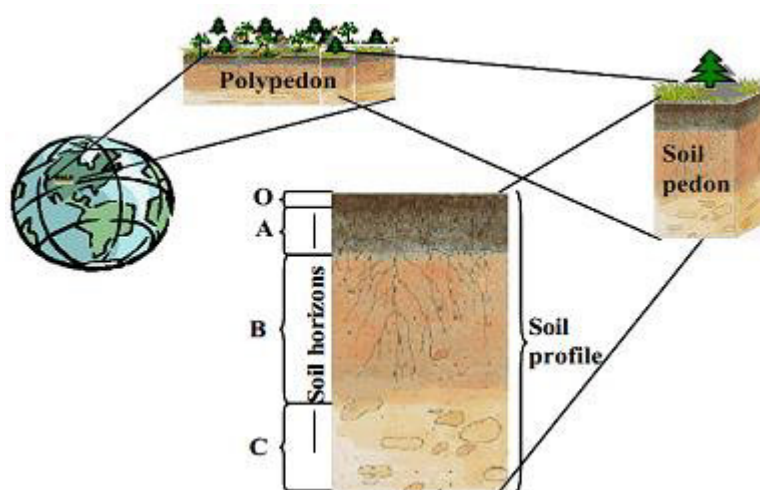


Figura 5 - imagem ilustrativa de um pedon e de um perfil do solo e seus horizontes. (fonte - expertsmind).

**Pedon** – palavra vinda do indo-europeu *Ped* (pé), é o volume mais pequeno que ainda pode ser considerado como um solo. Um Pedon representa uma porção de um perfil de um solo, com suficiente largura e espessura para registar as características de cada horizonte (Neto, 1982; Rosendahl, 2010).

## 2.2.2) Rochas

Uma rocha é um agregado sólido que ocorre naturalmente e é constituído por um ou mais minerais. A camada externa sólida da Terra, que por sua vez é designada litosfera, é constituída por rochas. A área científica que estuda as rochas é denominada petrologia. Para ser considerada como uma rocha, essa tem de ser um agregado com representatividade à escala cartográfica (volume suficiente) e ocorrer repetidamente no espaço e no tempo, ou seja, o fenómeno geológico de formação da rocha seja suficientemente importante na história geológica para se dizer que faz parte da dinâmica da Terra.

Há 3 tipos principais de rochas:

- Rochas Ígneas ou Magmáticas
- Rochas sedimentares
- Rochas metamórficas

As rochas ígneas ou magmáticas são formadas a partir da solidificação do magma. O movimento deste magma no interior da crosta terrestre pode atingir ou não a superfície. Quando o magma atinge a superfície e se solidifica rapidamente em contacto com a atmosfera, as rochas formadas dizem-se vulcânicas ou extrusivas, como é o caso do basalto. Por outro lado, quando o magma arrefece e solidifica a grandes profundidades e de uma forma lenta porque as perdas de calor são menores, as rochas formadas dizem-se plutónicas ou intrusivas, como é o caso do granito. Existe um terceiro tipo, as rochas hipabissais, que são as formadas a partir da solidificação do magma a baixa profundidade, e que apresentam características das duas anteriores (Muggler *et al.*, 2005).

As rochas sedimentares são formadas através da deposição e consolidação de sedimentos que são materiais originados da destruição e alteração de rochas pré-existentes. Assim, a formação de uma rocha sedimentar decorre de uma sucessão de etapas daquilo que se chama ciclo sedimentar. As etapas do ciclo sedimentar são a decomposição de rochas (intemperismo), o transporte dos produtos do intemperismo, a deposição dos sedimentos e a consolidação dos sedimentos (Muggler *et al.*, 2005).

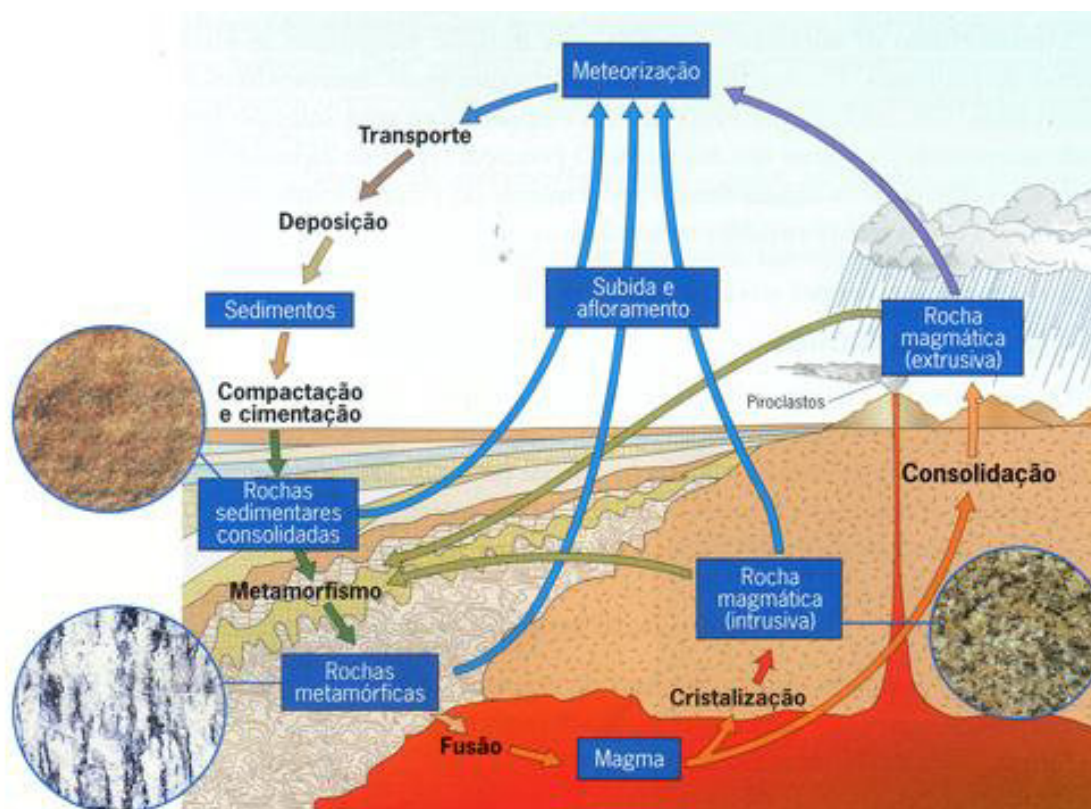


Figura 6 - ciclo sedimentar. (fonte – Correia, 2011).

As rochas sedimentares podem ser classificadas em dois grandes grupos. As Rochas Sedimentares Clásticas ou Detríticas, que são formadas por detritos de outras rochas, e as Rochas Sedimentares Químicas e Orgânicas, que são formadas por minerais quimicamente precipitados e por acúmulo e precipitação de materiais orgânicos animais e vegetais (Muggler *et al.*, 2005).

As rochas metamórficas são formadas por rochas sedimentares e magmáticas que se encontram em altas pressões e altas temperaturas, como é o caso do mármore (Muggler *et al.*, 2005). O processo de metamorfismo pode ocorrer de duas formas, o metamorfismo regional, que é o que ocorre em profundidade e o metamorfismo de contacto que ocorre nas “margens” dos maciços magmáticos (Guimarães e Medina, 1962).

### 2.2.3) Origem e formação dos solos

A maior parte da composição dos solos é resultado da desintegração e deposição (Intemperismo ou meteorização<sup>1</sup>) das rochas constituintes da crosta terrestre. Por sua vez, estas rochas podem resultar da cristalização de magma ejectado do interior da Terra para a crosta, ou a partir da alteração de outras rochas em resultado de variações de temperatura e de pressão (Fernandes, 1994; Muggler et al., 2005).

As rochas originais podem se decompor e desintegrar em solos, que por sua vez, quando em elevadas pressões e temperaturas, transformam-se em matéria rochosa novamente, constituindo as rochas sedimentares. Se as temperaturas forem suficientemente altas, as partículas do solo podem perder a sua identidade numa massa em fusão, que recristalizando, formam as chamadas rochas metamórficas. Estes processos de formação dos solos (Pedogénese<sup>2</sup>) e das rochas e vice-versa, podem ocorrer alternadamente por diversas vezes, sendo que estão envolvidos vários factores e processos na transformação das rochas em solos (Fernandes, 1994; Muggler et al., 2005).

As rochas, quer sejam formadas a grandes profundidades, sob a elevadíssima pressão das formações geológicas sobrejacentes, quer sejam formadas na superfície da Terra pelo magma expelido pelos vulcões, sempre que a massa rochosa arrefece, desenvolvem-se no seu interior tensões, que por sua vez são resultantes do arrefecimento e das deformações que a massa experimenta devido a movimentos de natureza tectónica. Assim, todos os maciços rochosos apresentam fracturação (maior ou menor), que de algum modo reflecte a distribuição e disposição cristalina no seu interior (Fernandes, 1994; Muggler *et al.*, 2005).

Eventualmente, numa exposição à superfície, o maciço rochoso fracturado será sujeito à acção física dos elementos como a água, vento e gravidade, e por sua vez irá desligar-se em blocos rochosos que se movem para novas posições de equilíbrio. O movimento será geralmente acompanhado por nova fracturação e fissuração de cada bloco. Assim, qualquer massa rochosa tende a ser gradualmente desintegrada em fragmentos de

---

<sup>1</sup> Intemperismo ou meteorização, é o conjunto de fenómenos físicos e químicos que levam à degradação e

<sup>2</sup> Pedogénese é o processo em que determinado solo é formado assim como suas características e sua evolução na paisagem.

menores dimensões, formando os solos. Quanto maior for o contacto entre fragmentos por acção do escorregamento nas encostas, transporte nos cursos de água ou pelo vento, mais arredondados estes se tornam. Normalmente, a acção do vento e da água tende a concentrar no mesmo local partículas do mesmo tamanho, sendo portanto, corrente a existência de depósitos relativamente uniformes de sedimentos (Fernandes, 1994; Muggler et al., 2005).

O movimento dos glaciares faz com que estes arranquem e levistem rochas na sua passagem, que são transportadas e friccionadas no interior da massa de gelo. Desta acção resultam solos com uma granulometria muito extensa, desde partículas muito finas até blocos de grandes dimensões. Estes solos podem ser transportados por quilómetros pelos glaciares e depositados com o degelo. Podem sofrer novo transporte por novos avanços dos glaciares. Eventualmente estes solos irão depositar-se sendo arrastados depois pela acção do vento e da água, formando novos depósitos em lagos, dunas ou deltas (Fernandes, 1994).

À medida que as dimensões das partículas do solo vão diminuindo, estas atingem o seu limite de partição e subdivisão por processos físicos. No entanto, no que diz respeito a processos químicos, estes podem provocar uma maior diminuição das partículas do solo, em comparação com as partículas sujeitas apenas a processos físicos. Isto acontece porque com a diminuição das partículas há um aumento da superfície específica e consequentemente, aumenta a eficácia da acção química do líquido envolvente, cujas propriedades tendam a desenvolver combinações químicas com os minerais de que o solo é composto. As reacções químicas entre as partículas do solo e ácidos dissolvidos na água dão lugar à dissolução de minerais presentes no solo que recombinarão e recristalizarão sob diferentes condições de pressão e temperatura em novas localizações devido ao movimento da água, formando novos minerais (argilas). Este processo tende a criar partículas minerais mais pequenas, com forma de bastonetes ou placas, com diâmetros ou comprimentos muito superiores à sua espessura, ao contrário das partículas tendencialmente esféricas que se obtêm pela alteração física das rochas (Fernandes, 1994).

Estes novos minerais formados pela acção química, quando transportados pela água até um lago ou oceano, demoram um longo período de tempo a depositarem-se devido às suas reduzidas dimensões, formando depósitos de solos muito finos. Em lagos e oceanos continuamente alimentados por rios que transportam uma extensa gama de materiais sólidos, podendo os minerais de várias dimensões depositarem-se em conjunto com os

minerais de argila formando depósitos de granulometria variada. No entanto, qualquer depósito sedimentar, seja de argilas ou outros sedimentos, pode ser elevado e novamente erodido pelas forças da natureza formando sucessivos depósitos de características variadas (consoante a natureza e sucessão das reacções químicas, sedimentações, ciclos de molhagem e secagem, variações de estado de tensão, entre outros, que experimentem. Assim podemos reconhecer uma grande diversidade de solo devido à grande variedades de processos naturais disponíveis (Fernandes, 1994).

#### 2.2.4) Classificação dos solos quanto à granulometria

A granulometria (textura do solo) refere-se às percentagens quantitativas de argila, silte e areia numa amostra de solo.

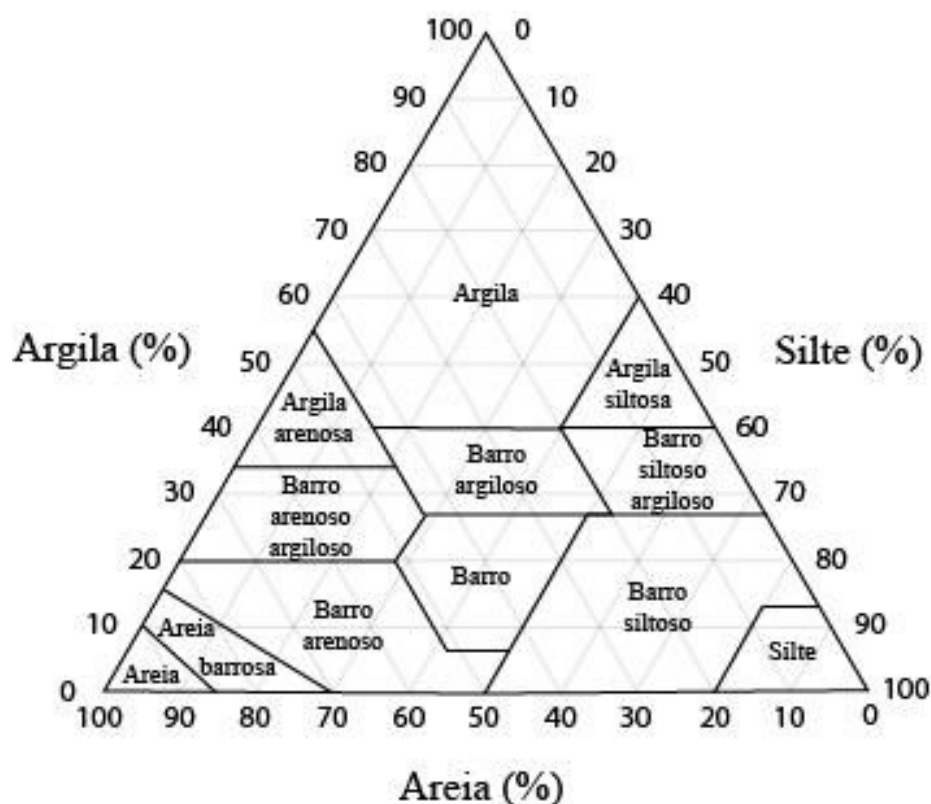


Figura 7 - composição dos solos quanto ao tamanho dos grãos. (fonte: imagem adaptada de sebenta de contaminação e descontaminação de solos, Stefan Rosandahl)

Existem várias designações para os solos, como por exemplo, quando a fracção de argila domina e em conjunto com areia ou com silte, diz-se argila arenosa e argila siltosa respectivamente. Quando nenhuma fracção domina, o solo é designado como *barro* (Rosendahl, 2010).

Tabela 3 - Classes granulométricas das partículas do solo. (fonte: sebenta de Contaminação e Descontaminação de Solos compilada pelo Prof. Stefan Rosendahl)

	Sistema Internacional	Sistema USDA*
<b>Gravilha</b>	> 2,0 mm	>2mm
<b>Areia muito grossa</b>	-	1,0 - 2,0 mm
<b>Areia grossa</b>	0,2 - 2,0 mm	0,5 - 1,0 mm
<b>Areia média</b>	-	0,1 - 0,5 mm
<b>Areia fina</b>	0,05- 0,1 mm	0,05- 0,1 mm
<b>Silte</b>	0,002 - 0,05 mm	0,002 - 0,05 mm
<b>Argila</b>	< 0,002 mm	< 0,002 mm

\*USDA- US Department of Agriculture

### 2.2.5) Morfologia

Quanto maior for a actuação da pedogénese no solo, mais este se tornará um corpo individual, com características próprias. Os vários parâmetros da morfologia são a textura, cor, estrutura, consistência, porosidade, perfil e horizontes.

Geralmente uma cor mais escura indica maior quantidade de matéria orgânica enquanto os tons avermelhados indicam óxidos ferrosos.

A porosidade, consistência e estrutura influenciam a entrada de água e ar e por sua vez influenciam outros factores como a dureza ou plasticidade.

### **2.2.6) Funções do solo**

Devido às suas características, o solo é essencial para o abastecimento das plantas com água e nutrientes, bem como para a sua ancoragem, proporcionando espaço para as raízes. O solo constitui um biótopo para organismos decompositores, que por sua vez tem um papel importante no ciclo de carbono e dos nutrientes minerais. Este (solo), também ameniza a oscilação de temperatura, controla o fluxo de água e serve como camada protectora entre a atmosfera e as águas subterrâneas. Devido às suas características de permuta de iões, o solo tamponiza o valor de pH e evita que sejam perdidos nutrientes e outros elementos por acção da lixiviação e evaporação (Rosendahl, 2010).

### **2.3) Chumbo nos solos**

Os solos são sujeitos a variadas substâncias contaminantes, sendo que as mais importantes pertencem aos grupos de metais pesados, radionuclídeos, compostos orgânicos, fertilizantes e pesticidas. No caso dos metais pesados, estes constituem componentes naturais de ecossistemas, sendo alguns micronutrientes (elementos vestigiais), como o cobre, manganês e o zinco, que são necessários para plantas e animais, quando em quantidades reduzidas (Rosendahl, 2010). O aumento da percentagem dos metais pesados no solo é motivo de preocupação, pois estes quando em quantidades mais elevadas tornam-se tóxicos, incluindo como micronutrientes (Rosendahl, 2010).

Sendo o chumbo um metal pesado com uma longa história de uso industrial e com importantes efeitos tóxicos sobre a saúde humana (Filho *et al.*, 2003), é comum a sua monitorização e análises, principalmente em zonas mais propícias à deposição, que são junto das fontes de emissão e na camada superficial (entre 0-10 cm) (Abreu *et al.*, 1998).

#### **2.3.1) Fontes de contaminação do solo por chumbo**

O Pb tal como outras substâncias nocivas, existe naturalmente mas as suas concentrações podem variar em função dos tipos de rochas, dado que o material inicial (rocha-mãe) influencia as características dos solos. Mais preocupante é o que chega ao



ambiente através da actividade humana, o chamado Pb antropogénico. As principais fontes de emissão humana deste no ambiente são (Filho *et al.*, 2003; Rosendahl, 2010):

- Exploração mineira
- Fundições
- Refinarias de Pb
- Fábricas de baterias
- Indústria de cerâmica
- Indústria de plásticos
- Pigmentos em tintas
- Aditivo nos combustíveis

Graças ao grande conhecimento adquirido nas últimas décadas sobre Pb e os seus mecanismos de toxicidade, foram introduzidas medidas de prevenção, de supervisão médica e medidas de higiene industrial que contribuíram consideravelmente para a redução dos níveis de exposição ocupacional. O Pb também deixou de ser utilizado nos combustíveis automóveis e tem sido substituído por alternativas em materiais como brinquedos, tubos de água, tintas e contentores para alimentos. No caso dos Estados Unidos, os compostos de Pb não são usados na manufatura de tintas para o uso doméstico (Filho *et al.*, 2003; Rosendahl, 2010; Russell, 1994).

### **2.3.2) Mobilidade do Pb**

O Pb tem uma baixa movimentação no perfil dos solos, acumulando-se na camada de 0 -10 cm de profundidade (Abreu *et al.*, 1998; Silva *et al.*, 2013), segundo Lagerweff & Specht (1970), Cook *et al.*, (1994) e Eklund (1995) as fontes emissoras tem uma grande influência no aumento da concentração de Pb no solo, sendo esta concentração mais elevada junto da fonte emissora, como foi verificado em 1993 pela CETESB (órgão

responsável pela prevenção e controle da poluição ambiental no Estado de São Paulo) (Abreu *et al.*, 1998).

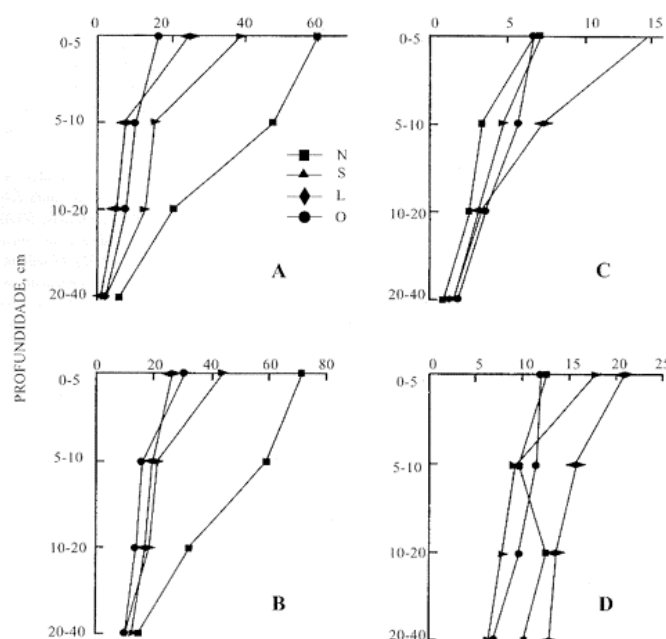


Figura 8 - Teores de Pb no perfil de solo, extraídos pelas soluções de DTPA (A, C) e Mehlich-3 (B, D), em amostras coletadas perto (A, B) e distante (C, D) da fonte geradora (indústria produtora de lingotes de Pb), nas quatro direções (N, S, E, O). (fonte: Abreu *et al.*, 1998)

Acredita-se que a acumulação de Pb na camada superficial está também associada à matéria orgânica, cujo teor também diminui com a profundidade. A presença de matéria orgânica fornece condições para que ocorra a formação de complexos insolúveis com metais pesados (Abreu *et al.*, 1998; Silva *et al.*, 2013).

O vento também tem influência no transporte do Pb, uma vez que o distribui em diversas direções, fazendo com que a concentração de Pb seja superior nas direções dos ventos predominantes (Abreu *et al.*, 1998).

### **2.3.3) Chumbo na flora e fauna**

É sabido que qualquer químico pode provocar efeitos nocivos se a quantidade introduzida num organismo for suficientemente alta mas a simples exposição a um determinado químico não significa que ocorram efeitos nocivos. Geralmente quando expostos a concentrações baixas, os organismos não sofrem, aparentemente, nenhum efeito nocivo e continuam a desenvolver-se. Por outro lado se as concentrações forem suficientemente altas, podem conduzir à morte. Assim sendo, a dose, ou seja, a quantidade de material que entra no organismo e determina alterações biológicas, tem uma grande importância. Na maioria dos casos não se verificam quaisquer efeitos até ser atingida nos organismos uma concentração igual à concentração de fundo típica do meio ambiente. Por esta razão, em toxicologia ambiental, a concentração de um químico no ambiente é muitas vezes utilizada como um substituto para se saber a quantidade ou dose de um químico que entra num organismo. Contudo, não se pode esquecer que a dose e a concentração ambiental apenas se correlacionam de uma forma indirecta, pois existem outros factores, como a razão superfície/volume, a forma, as características da cobertura externa e sistemas respiratórios dos organismos que podem afectar as taxas de absorção a partir do ambiente. Além disso, deve-se ter em conta que a concentração é a variável que determina a mortalidade mas a concentração e dose nem sempre são proporcionais ou comparáveis de espécie para espécie (Rosa, 2012).

#### **2.3.3.1) Chumbo nas plantas**

A quantidade de iões de nutrientes e não nutrientes que são absorvidos pelas plantas depende essencialmente da concentração destes na solução aquosa no solo e da sua recarga. Por sua vez, a concentração destes iões na solução depende da quantidade de iões que é adsorvida por partículas reactivas do solo, tais como o húmus, os óxidos de ferro, de manganês e de alumínio, e os minerais de argila com alumínio. Os metais pesados, como o chumbo, encontram-se sob a forma de catiões quando dissolvidos e tendem a se juntar às superfícies das partículas do solo com carga negativa. Além disso, estes são incorporados em complexos e mais facilmente adsorvidos a minerais de argila com alumínio, óxidos

hidratados e húmus. Exceptuando o molibdato, a adsorção aumenta com o aumento do valor do pH, sendo assim, a concentração dos metais pesados é máxima em solos ácidos porque se encontram mais solúveis. A absorção de nutrientes pelas plantas segue o mesmo padrão. A actividade dos microorganismos influencia o processo, pois alteram o valor do pH localmente e produzem complexos orgânicos solúveis. Finalmente, a absorção de nutrientes depende da libertação de protões das raízes das plantas (Rosendahl, 2010).

No que diz respeito ao Pb, as plantas crescem sem problemas em solos com concentrações moderadas deste (Craigmill e Harivandi, 2010), de facto, é conveniente que o solo esteja plantado com, pelo menos, relva pois reduz a quantidade de poeiras do solo contaminado de Pb que pode facilmente ser transportado por vento, sendo que assim não há problema se forem plantas ornamentais. No caso de plantas para consumo há vários factores que influenciam se estas apresentam ou não um risco. De uma forma geral, as plantas não absorvem grandes quantidades de Pb, e a quantidade absorvida depende da sua espécie e da sua variedade, da composição química do solo, da quantidade de Pb no solo e da temperatura do solo, sendo assim difícil prever a quantidade de Pb que uma planta pode conter baseando-se apenas na quantidade de Pb no solo (Craigmill e Harivandi, 2010), o que vai de acordo com Abou-Arab et al. (1999) que num estudo sobre a contaminação de plantas medicinais com metais como o Pb e cádmio, concluíram que o teor destes nas plantas dependeria da irrigação do solo com água contaminada ou não contaminada, do uso de fertilizantes e herbicidas durante o plantio, das espécies de plantas, da quantidade de emissões de partículas no ar e das condições climáticas (Vulcano *et al.*, 2008).

Contudo o Pb é geralmente lento para se mover na planta (da raiz até às folhas), e a maior parte do Pb que entra na planta acumula-se nas raízes mais finas e depois nas folhas (Craigmill e Harivandi, 2010). O mesmo foi concluído em 2000 por Abou-Arab e Abou, que após a análise de várias espécies de plantas, concluíram que os níveis mais elevados de contaminação por metais como o Pb eram encontrados no sistema radicular e nas folhas das plantas em decorrência da acumulação do metal no solo. Em 1999 Abou-Arab *et al.* expuseram no seu trabalho que os teores de Pb aceites pela Farmacopeia Alemã e Europeia em vegetais e folhas era de 0,8 mg/kg e em frutos e raízes 0,25 mg/kg (Vulcano et al., 2008). Frutos como os tomates, pimentos, maçãs e laranjas e sementes como as do milho, ervilhas e feijão apresentam geralmente concentrações de Pb mais baixas sendo estas as

porções seguras das respectivas plantas a comer caso cresçam em solos contaminados por Pb (Craigmill e Harivandi, 2010). Assim sendo, há algumas precauções que se podem e devem ter em conta antes de se ingerir plantas que cresceram em solo contaminados por Pb, tais como (Craigmill e Harivandi, 2010):

- Não plantar vegetais folhosos ou tubérculos em solos contaminados por Pb, nem ingeri-los caso sejam provenientes de solos contaminados por Pb.
- Em primeira instância o maior risco de consumo de Pb é por ingestão do solo que possa existir na planta, que por sua vez cresceu num solo contaminado por Pb, assim é importante que estes vegetais sejam lavados e descascados se possível antes de serem consumidos.
- Raízes e tubérculos podem ser lavados com água corrente e cortados, de modo a que seja possível lava-los e retirar assim o excesso de contaminação por Pb.

Existem também algumas formas de reduzir a quantidade de Pb que os vegetais absorvem do solo. Para isso é necessário providenciar acertos que promovam a ligação do Pb com outros componentes do solo e ainda gerir o pH do solo. A matéria orgânica liga-se ao Pb e captando-o e tornando-o menos acessível às plantas. Contudo, a matéria orgânica acaba por fragilizar, sendo necessário nova adição de matéria orgânica (composto, decomposição de folhas, estrume). Compostos ricos em fósforo conseguem baixar a absorção do Pb pelas plantas, este pode ser adicionado através de fertilizantes de jardim ricos em fósforo (Craigmill e Harivandi, 2010; Rosendahl, 2010). Por outro lado, um estudo feito sobre a Avaliação da Influência do Fósforo na Bioacumulação do Pb pela *Eichhornia crassipes* (uma macrófita aquática), concluiu que a presença de excesso do nutriente fósforo na fase aquosa contribui para um leve favorecimento no processo de adsorção de íons de Pb para as raízes da planta. No entanto, este comportamento não foi observado para as folhas da macrófita, mostrando que o Pb que é adsorvido em maior proporção na raiz pela presença de maiores níveis de fósforo, não é transportado para as folhas em função devido ao aumento da concentração de fósforo (Oliveira *et al.*, 2014). Em solos ácidos pode-se adicionar calcário para aumentar o pH, tendo o cuidado para não ultrapassar o valor de 7.5, pois se tal acontecer os elementos necessários para um

crescimento e desenvolvimento saudável das plantas também se tornam inacessíveis às mesmas (Craigmill e Harivandi, 2010; Rosendahl, 2010).

### **2.3.3.2) Chumbo nos animais e no Homem**

A bioacumulação é o processo pelo qual substâncias tóxicas e não biodegradáveis (que os seres vivos não conseguem metabolizar) permanecem em caráter cumulativo ao longo da cadeia alimentar. Por sua vez, a cadeia alimentar é constituída por três principais níveis tróficos: os produtores, os consumidores e os decompositores. Os produtores são representados pelos seres vivos autótrofos, ou seja, são capazes de produzir seu próprio alimento, como vegetais, algas e cianobactérias. Os segundos, são os que consomem os produtores e podem ser classificados em consumidores primários, que se alimentam de produtores; Consumidores secundários, que se alimentam de consumidores primários e consumidores terciários os que se alimentam de consumidores secundários. Por fim, os decompositores, que são os que consomem resíduos de vegetais e animais mortos e encerram o ciclo devolvendo os nutrientes ao meio (Cardoso, 2015).

Neste ciclo, os produtores podem assimilar pequenas quantidades de substâncias tóxicas dispersas no ambiente, o que pode não ser, necessariamente, tóxico para eles. No decorrer da cadeia, os produtores são consumidos por consumidores e a quantidade de substância tóxica assimilada no início permanecerá no seu organismo, uma vez que, tal substância não pode ser metabolizada. E assim forma-se um ciclo, em que um ser vivo consome outro e os poluentes vão se acumulando na cadeia alimentar. Portanto, os seres que mais sentem os efeitos desse acúmulo são os consumidores terciários, pois ingerem muito mais poluentes do que todos os outros participantes da cadeia (Cardoso, 2015).

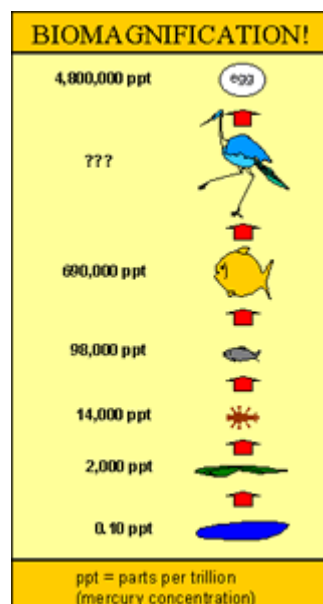


Figura 9 – Exemplo de bioacumulação (fonte – Cardoso, 2015)

Porém, no caso do Pb, a absorção deste no organismo é influenciada pela rota de exposição, espécie química formada, tamanho da partícula (no caso de particulado), solubilidade em água, e variações individuais fisiológicas e patológicas (Moreira e Moreira, 2004), dieta, nutrição, idade e provavelmente pela genética. Estes factores influenciam a forma como o Pb se encontra ao longo da cadeia trófica, podendo acumular-se ao longo desta ou não.

Tsuchiya (1986) diz que a cadeia alimentar solo → planta → animal → homem, é caracterizada mais propriamente por uma diluição do que por uma acumulação. Sendo o factor de diluição de aproximadamente 1000 e em áreas industriais poluídas de apenas 100 (Lima *et al.*, 2002).

Em animais, existe uma correlação entre o Pb nos tecidos e as concentrações do metal proveniente da dieta, embora os níveis nos tecidos sejam quase sempre mais baixos (Paoliello e Chasin, 2001).

Um estudo em bovinos verificou que para o consumo de alimentos com minerais e teores metálicos entre os 30 e 47 ppm, no espaço de um ano de consumo ininterrupto, não

foi suficiente para causar quadro acumulativo e manifestação nos valores hemáticos (Marçal *et al.*, 1998).

Na maioria dos animais terrestres, o Pb tem um comportamento semelhante ao observado no Homem. Segundo Tsalev e Zaprianov, 1985, o Pb no organismo humano não é metabolizado, e sim, complexado por macromoléculas, sendo directamente absorvido, distribuído e por fim excretado. Os compostos de Pb inorgânico entram no organismo por inalação (rota mais importante na exposição ocupacional) ou ingestão (via predominante para a população em geral). Somente os compostos orgânicos de Pb são capazes de penetrar através da pele íntegra. Os compostos de Pb tetra alquilo (chumbo tetra etilo, etc.), por exemplo, são absorvidos rapidamente pelos pulmões, trato gastrointestinal e também pela pele (Moreira e Moreira, 2004).

Segundo Fellenberg (1980), o Pb assimilado através do trato digestivo não é o que oferece maior perigo, pois este só é absorvido parcialmente. O perigo maior reside no Pb e no tetra etilo de chumbo contido no ar que quando inalado atinge os pulmões, onde é absorvido de modo mais rápido e completo do que no trato digestivo (Lima *et al.*, 2002).

A absorção do Pb pelo trato gastrointestinal varia de 2% a 16% se ingerido com a refeição e pode chegar a 60-80%, quando administrado em jejum. Mulheres grávidas e crianças absorvem 45% a 50% do Pb presente na dieta. A absorção pelo trato gastrointestinal depende mais de fatores nutricionais tais como ingestão de cálcio (Ca), ferro (Fe), fósforo (P) e proteínas, do que da solubilidade dos compostos de Pb, devido à acidez do estômago. Sabe-se que um baixo teor de Ca ou Fe na dieta aumenta a absorção do Pb. O mesmo é verdadeiro para uma alimentação deficiente em P e proteínas. Cheng (1998), obteve resultados que sugerem que a baixa ingestão diária de vitamina D pode aumentar a acumulação do Pb nos ossos, enquanto a menor ingestão diária de vitamina C e ferro pode aumentar os níveis de Pb no sangue (Moreira e Moreira, 2004).

A distribuição do Pb pelo organismo depende da sua taxa de transferência da corrente sanguínea para os diferentes órgãos e tecidos. Entre crianças e adultos, existem inúmeras diferenças relacionadas com a idade. Uma vez absorvido, o Pb distribui-se entre o sangue, os tecidos moles (rins, medula óssea, fígado e cérebro) e os tecidos mineralizados (ossos e dentes) (Moreira e Moreira, 2004). Segundo Hu (1998), em adultos,



os ossos contêm cerca de 90% a 95% do conteúdo corporal total de Pb, enquanto nas crianças os valores oscilam entre 80% e 95%. Goyer (1991) diz que embora a concentração de Pb em sangue seja menor do que 2% do seu teor total no organismo, 90% a 99,8% do metal neste, está ligado à membrana celular e a frações de proteínas (principalmente à hemoglobina, e outras proteínas de baixo peso molecular) das células vermelhas (Moreira e Moreira, 2004).

Todo Pb não absorvido pelo trato gastrointestinal é eliminado pelas fezes, inclusive aquele proveniente do ar, que foi engolido e não absorvido. O metal não retido no organismo é eliminado pelos rins ou excretado pela bÍlis para o trato gastrointestinal. No entanto, como acontece com outros processos fisiológicos, os mecanismos precisos de excreção do Pb pela urina bem como pelas fezes ainda não foram totalmente explicados (Moreira e Moreira, 2004).

Para microrganismos, os compostos inorgânicos de Pb apresentam uma toxicidade mais baixa que os compostos orgânicos. Segundo um estudo à resistência de bactérias (*E.coli*), foi verificado uma resistência ao Pb de 93,3% (Paoliello e Chasin, 2001).

Em ecossistemas de invertebrados aquáticos, algumas populações são mais sensÍveis do que outras, e a estrutura da comunidade pode ser afectada pela contaminação por Pb. No entanto, populações de áreas poluídas podem mostrar maior tolerância ao Pb quando comparadas com outra de área não poluídas (Paoliello e Chasin, 2001).

Nos peixes, a absorção de Pb só entra em equilíbrio após algumas semanas de exposição, acumulando-se principalmente nas brânquias, fÍgado e ossos. Os seus ovos mostram um aumento dos níveis de Pb com o aumento da concentração de exposição (Paoliello e Chasin, 2001).

Em crustáceos, as concentrações de Pb são mais altas em conchas ricas em cálcio, quando comparadas com os tecidos moles. Essas concentrações relacionam-se com os níveis no sedimento (Paoliello e Chasin, 2001).

### 2.3.4) Valores de referência e níveis de intervenção

No que diz respeito à legislação, esta muda conforme com o país fazendo com que os valores de referência e de intervenção relativos ao Pb, possam diferir bastante entre si. Em áreas de domínios, como no caso de produtos alimentares e emissões industriais, de uma forma geral existe legislação e bem definida uma vez que o Pb e seus efeitos nocivos é um assunto já bastante estudado. No que diz respeito aos níveis de referência e níveis de intervenção de Pb no solo, nem todos os países têm legislação ou simplesmente não é clara, sendo que na tabela abaixo são apresentados os níveis para alguns países e regiões. Por nível de referência entende-se o limite de qualidade para um solo considerado de qualidade e não contaminado e por nível de intervenção entende-se o limite máximo de contaminação que serve instrumento de suporte à decisão sobre a necessidade e urgência de uma possível intervenção no local (isolamento, contenção, remediação).

Tabela 4 – Pb no solo, níveis de referência e de intervenção

Chumbo (Pb)	
Níveis de referência ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	Níveis de intervenção ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
<b>16+0.7L+2.1H</b> - País Basco (IHOBE, 1994)	<b>100</b> - Itália (GRER, 1996)
<b>40</b> - Bélgica (BVVRHABTGG, 1995)	<b>200</b> - (S. agrícolas e parques.), Bélgica (Adriano et al., 1997)
<b>70</b> - Catalunha (Busquet, 1997)	<b>330</b> - (VIE-C ecossistemas) País Basco (IHOBE, 1994)
<b>85</b> - Holanda (NMHPPE, 1994)	<b>350</b> - (S. Agrícolas), Andalucia (CMAJA, 1999)
<b>100</b> - Alemanha (Barth e Hermite, 1987)	<b>375</b> - (S. Agrícolas) Canadá (Sheppard et al., 1992)
<b>100</b> - (S. Agrícolas), Andaluzia (CMAJA, 1999)	<b>400</b> - (A. Residenciais), Bélgica (Adriano et al., 1997)
	<b>500</b> - (A. Residenciais), Ontário (Sheppard et al., 1992)
	<b>530</b> - Holanda (NMHPPE, 1991)
	<b>1000</b> - (A. Residenciais), Ontário (Sheppard et al., 1992)
	<b>1000</b> - (parques naturais), Andalucia (CMAJA, 1999)
	<b>1500</b> - (áreas recreativas), Bélgica (Adriano et al., 1997)
	<b>2000</b> - (áreas industriais), Andalucia (CMAJA, 1999)
	<b>2500</b> - (áreas industriais), Bélgica (Adriano et al., 1997)

No caso de Portugal, não existe legislação específica relativa à problemática da contaminação dos solos. A legislação nacional relativa à protecção do ambiente (Lei de Bases do Ambiente), qualidade da água e gestão de resíduos, tem permitido uma abordagem válida aos problemas que se colocam resultantes dos locais contaminados, tendo em vista principalmente a prevenção e redução da contaminação. Este propósito também se verifica na legislação sobre Avaliação de Impacte Ambiental e sobre Planeamento e Ornamentação do Território. Actualmente a legislação Portuguesa classifica os solos em função da actividade para que vão ser usados, não estabelecendo limites para a sua contaminação. Esta variabilidade na legislação torna difícil a uniformização de critérios e de esforço para a resolução deste grave problema ambiental (Rosendahl, 2010).

### **2.3.5) Descontaminação do chumbo presente no solo**

Existem dois tipos básicos de fontes de introdução de poluentes no ambiente, as descargas pontuais e as descargas não pontuais ou difusas. As descargas pontuais são as descargas que derivam de fontes como as entradas de esgotos no ambiente, efluentes industriais, locais de tratamento de resíduos perigosos e derrames acidentais. Em termos de materiais, quantidades, taxas de libertação e quantidades totais, as descargas pontuais são fáceis de caracterizar quando comparadas com as descargas não pontuais que são difíceis de caracterizar e as suas taxas de temporização difíceis de prever. As descargas não pontuais são as que correspondem aos materiais libertados a partir dos solos e dos sedimentos contaminados, da deposição atmosférica, da lixiviação dos solos agrícolas e de zonas urbanas como áreas residenciais e parques de estacionamento (Rosa, 2012). Assim sendo, se forem seguidos todos os regulamentos e normas, a contaminação do solo através da utilização de lamas de ETAR e de aterros sanitários pode ser evitada. No entanto, podem ser aplicados alguns métodos de tratamento nos solos que se encontram previamente contaminados, como (Rosandahl, 2010):

- Tratar o solo com pó de calcário, de modo que seja de 6,5 o seu pH, diminuindo assim, a disponibilidade da maioria dos metais para as plantas.

- Adicionar matéria orgânica ao solo, que tem o mesmo efeito que o tratamento com calcário.
- Uma melhor drenagem pode ser útil, dado que óxidos de  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{Mn}^{4+}$  podem adsorver os metais pesados.
- Cultivo de plantas que toleram os metais pesados, utilizando se necessário espécies que crescem em cima de solos ricos em metais pesados.
- No caso de a contaminação ser extremamente forte, a parte superior do solo de ser substituída ou simplesmente retirada, uma vez que é nesta que se encontram concentrados os metais pesados.

## 2.4) Métodos Estatísticos

### 2.4.1) Exemplo de determinação de pontos final NOEC e LOEC sem o auxílio de programas informáticos de estatística

Pelas semelhanças com o presente trabalho, apresenta-se um exemplo de cálculo de NOEC e LOEC utilizando as mesmas alfaces *Lactuca sativa* e o efeito nelas provocado pela exposição a um contaminante em solução. Para o cálculo da concentração (máxima) com efeitos não observáveis (NOEC - No Observed Effect Concentration) e da concentração com efeitos mínimos observáveis (LOEC - Lowest Observed Effect Concentration) são necessárias pelo menos três réplicas em cada concentração ou tratamento. No caso de existirem valores aberrantes deve ser feito em primeiro lugar um teste aos *outliers* que elimine estes valores. Os testes possíveis são por exemplo o teste Dixon (ou teste *Q*) ou o teste Grubbs (ou teste *G*).

Apresenta-se um exemplo de determinação do NOEC e do LOEC que utiliza dados de um ensaio de laboratório em que se mediu a variação de elongação da raiz de *Lactuca sativa* após contacto com um efluente contaminado durante 120 horas. O efeito observado foi o tamanho da germinação que é influenciado pela concentração do contaminante que causa efeitos nocivos. Os valores foram arredondados à unidade.

Tabela 5 – Dados experimentais do ensaio de inibição do crescimento da raiz *Lactuca sativa* onde se apresentam os valores do crescimento da germinação em milímetros e, em percentagem, a concentração do contaminante que causa efeitos deletérios.

Réplica	Diluição da amostra testada						
	Controlo	1%	5%	10%	25%	50%	75%
1	24	19	16	17	14	13	12
2	26	21	18	17	15	16	12
3	21	22	21	18	15	17	13
4	25	22	22	21	18	18	14
5	25	22	22	21	19	18	17

Para determinar as concentrações pretendidas, NOEC e LOEC, é necessário efectuar uma comparação das médias do efeito, ou seja, comparação do tamanho médio das geminações obtidas com os diferentes grupos de concentração de contaminante. Esta comparação serve para testar a hipótese de o tamanho médio das germinações ser igual para todos os grupos de concentração. No caso de as médias não serem todas iguais, são posteriormente comparadas com o tamanho médio das germinações do ensaio de controlo que não sofreu os efeitos do contaminante, determinando-se assim exactamente quais as germinações em que se produziu um efeito estatisticamente diferente do efeito produzido no grupo de controlo e quais as as concentrações em que o efeito produzido não é estatisticamente diferente do efeito do controlo. A concentração que produziu a média de germinações mais alta sem diferenças significativas relativamente ao controlo será NOEC e a concentração que produziu o tamanho de germinação mais baixa com diferenças significativas relativamente ao controlo será LOEC. Para comparar as médias utiliza-se uma análise de variância (ANOVA) que tem necessariamente que ser antecedida por uma prova à normalidade dos erros e por uma prova à homogeneidade das variâncias que, apesar de não serem vinculativas, ou seja, o resultado pode mostrar que afastamento à normalidade e à homogeneidade mas a sua análise revelar que não se trata de um afastamento significativo, podendo-se assim avançar para os passos seguintes da determinação. A verificação das concentrações que produzem tamanhos médios de germinação iguais ou diferentes do tamanho médio do grupo de controlo é feito através de uma prova de comparação múltipla de Dunnett.

Em resumo, para poder chegar aos valores de NOEC e de LOEC são necessários os seguintes passos:

Prova à avaliação da normalidade de erros – Shapiro-Wilk

Prova de avaliação da homogeneidade de variâncias de Bartlett ou de Levene

Análise de variância – ANOVA

Prova de comparação múltipla – Dunnet

### 2.4.1.1) Prova à normalidade de erros de Shapiro-Wilk

Para se efectuar a prova de normalidade de erros Shapiro-Wilk é necessário ordenar de forma crescente os valores de tamanho obtidos em todas as réplicas efectuadas incluindo as do ensaio de controlo.

Tabela 6 – Ordenação das observações experimentais e cálculos da elongação média e da soma do quadrado dos erros

	Ordenação	$X_m$	$(X_i - X_m)^2$
1	12	18,6	43,56
2	12	18,6	43,56
3	13	18,6	31,36
4	13	18,6	31,36
5	14	18,6	21,16
6	14	18,6	21,16
7	15	18,6	12,96
8	15	18,6	12,96
9	16	18,6	6,76
10	16	18,6	6,76
11	17	18,6	2,56
12	17	18,6	2,56
13	17	18,6	2,56
14	17	18,6	2,56
15	18	18,6	0,36
16	18	18,6	0,36
17	18	18,6	0,36
18	18	18,6	0,36
19	18	18,6	0,36
20	19	18,6	0,16
21	19	18,6	0,16
22	21	18,6	5,76
23	21	18,6	5,76
24	21	18,6	5,76
25	21	18,6	5,76
26	21	18,6	5,76
27	22	18,6	11,56
28	22	18,6	11,56
29	22	18,6	11,56
30	22	18,6	11,56
31	22	18,6	11,56
32	24	18,6	29,16
33	25	18,6	40,96
34	25	18,6	40,96
35	26	18,6	54,76
$X_m = 18,60$		$\sum (X_i - X_m)^2 = D = 496,40$	

Calcula-se a média dos valores medidos ( $X_m$ ) e a soma dos quadrados dos erros ( $D$ ). Antes de efectuar o teste estatístico propriamente dito ( $W$ ), é necessário determinar um coeficiente ( $b$ ) a partir da ordenação crescente dos dados e dos respectivos valores, sendo  $N$  o número total de réplicas (população da amostra). Se  $N$  for impar, ignora-se o valor central de entre todas as réplicas, neste caso será a réplica indexada a  $i=18$ .

Tabela 7 - Cálculo do coeficiente  $b$  com a utilização do coeficiente  $a$  tabelado.

$i$	$N-i+1$	$a_{N-i+1}$	$x_{N-i+1}$	$x_i$	$a_{N-i+1}(x_{N-i+1}-x_i)$
1	35	0,4096	26	12	5,7344
2	34	0,2854	25	12	3,7102
3	33	0,2451	25	13	2,9412
4	32	0,2141	24	13	2,3551
5	31	0,1874	22	14	1,4992
6	30	0,163	22	14	1,304
7	29	0,1395	22	15	0,9765
8	28	0,1162	22	15	0,8134
9	27	0,0923	22	16	0,5538
10	26	0,0672	21	16	0,336
11	25	0,0403	21	17	0,1612
12	24	0,0107	21	17	0,0428
13	23	0	21	17	0
14	22	0	21	17	0
15	21	0	19	18	0
16	20	0	19	18	0
17	19	0	18	18	0
					<b><math>\Sigma=b=20,428</math></b>

Os valores do coeficiente para a prova de Shapiro-Wilk estão tabelados e dependem dos pares de valores de  $i$  e de  $N-i-1$ . Os valores críticos de Shapiro-Wilk e os valores críticos  $W$  apresentam-se nas tabelas do Anexo E.

A partir dos coeficientes  $D$  e de  $b$ , calcula-se o valor do teste estatístico ( $W_{calc}$ ) comparando-o de seguida com o valor crítico tabelado ( $W_{tab}$ ). Se o valor calculado for superior ao valor tabelado, aceita-se a hipótese nula de que a distribuição dos erros é normal.

$$W_{calc} = \frac{b^2}{D}$$

$$W_{calc} = \frac{20,428^2}{496,40} = 0,8406$$

$$W_{tab} = 0,934$$

Verifica-se que a hipótese é rejeitada, no entanto, uma análise cuidada revela que o valor calculado se encontra muito próximo do valor crítico tabelado, decidindo-se continuar com os testes.

#### 2.4.1.2) Prova à homogeneidade das variâncias de Bartlett ou prova à homogeneidade de variâncias de Levene

O teste estatístico Bartlett ( $T$ ) põe a hipótese nula de existir homogeneidade de variâncias quando um valor calculado ( $T_{calc}$ ) for inferior a um valor tabelado de  $\chi^2$  para as condições do problema, nomeadamente o nº de graus de liberdade ( $k-1$ ) e a probabilidade ( $p$ ). Estes valores de  $\chi^2$  são apresentados na Tabela do Anexo D.

Nesta prova de Bartlett calculam-se as variâncias ( $S_i^2$ ) das réplicas de cada concentração, a variância comum ou *pooled* ( $S_p^2$ ), sendo  $N_i$  o número de réplicas em cada concentração,  $N$  o número total de réplicas e  $k$  o número de grupos (concentrações e controlo).

Tabela 8 – Calculo das variâncias das réplicas de cada concentração e da variância comum.

$S_i^2 =$	3,7	1,7	7,2	4,2	4,7	4,3	4,3
$N_i =$	5	5	5	5	5	5	5
$N =$	35						
$k =$	7						
$S_{pi}^2 =$	0,529	0,243	1,029	0,6	0,671	0,614	0,614



$$S_p^2 = \sum \sqrt{\frac{(N_i - 1)S_i^2}{(N - K)}}$$

$$S_p^2 = 5,3956$$

$$T_{calc} = \frac{(N - K) \ln(S_p^2) - \sum_{i=1}^K (N_i - 1) \ln S_i^2}{1 + \left( \frac{1}{3(K - 1)} \right) \left( \sum_{i=1}^K \frac{1}{(N_i - K)} - \frac{1}{(N - K)} \right)}$$

$$T_{calc} = 4,61$$

$$X_{(p;k-1)}^2 = X_{(0,05;6)}^2 = 12,59$$

$$T_{calc} \leq X_{(0,05;6)}^2$$

Aceita-se a hipótese nula de que existe homogeneidade de variâncias.

Esta prova pode ser substituída pela prova de Levene se o teste for feito utilizando o programa de computador IBM® SPSS® Statistics uma vez que o SPSS não efectua prova de Bartlett.

### 2.4.1.3) Análise de variância (ANOVA)

Para poder aplicar este teste estatístico não é necessário que os pressupostos anteriores (normalidade de erros e homogeneidade de variâncias) sejam rigorosamente verificados. É necessário que os testes sejam conduzidos e que uma decisão seja tomada em face dos resultados obtidos nesses testes preliminares. A análise de variâncias (ANOVA) serve para verificar se existe uma diferença estatística entre as médias do efeito (tamanhos da germinação) para todos os grupos de concentrações testadas.

Tabela 9 – Cálculo do quadrado do erro global

		j=1	j=2	j=3	j=4	j=5				
		Réplicas (x)								
		1	2	3	4	5	T <sub>i</sub>	T <sub>i</sub> <sup>2</sup>	x <sub>m</sub>	Σ(x <sub>ij</sub> -x <sub>m</sub> ) <sup>2</sup>
i=1	Controlo	24	26	21	25	25	121	14641	24,2	14,8
i=2	1%	19	21	22	22	22	106	11236	21,2	6,8
i=3	5%	16	18	21	22	22	99	9801	19,8	28,8
i=4	10%	17	17	18	21	21	94	8836	18,8	16,8
i=5	25%	14	15	15	18	19	81	6561	16,2	18,8
i=6	50%	13	16	17	18	18	82	6724	16,4	17,2
i=7	75%	12	12	13	14	17	68	4624	13,6	17,2
T= 651							ΣT <sub>i</sub> <sup>2</sup> = 62423	X <sub>m</sub> = 18,6	ΣΣ(x <sub>ij</sub> -x <sub>m</sub> ) <sup>2</sup> =	120

Sendo:

T<sub>i</sub> – a soma das observações em todas as réplicas para um dado grupo

x<sub>m</sub> – a média das observações de todas as réplicas para cada grupo

Σ(x<sub>ij</sub>-x<sub>m</sub>)<sup>2</sup> – a soma dos quadrados dos erros de todas as réplicas para cada grupo

T – a soma de todas as réplicas

X<sub>m</sub> – a média das médias

ΣΣ(x<sub>ij</sub>-x<sub>m</sub>)<sup>2</sup> - a soma dos quadrados de todos os erros

Tabela 10 – Construção da tabela ANOVA

Fonte de variância	Graus de liberdade	Soma de quadrados	Quadrado médio	F <sub>calc</sub>	Valor de p
Entre grupos	6	376	62,667	14,574	0,05
Dentro de grupos	28	120,4	4,3		
Total	34	496,4			

Sendo:

Graus de liberdade entre grupos = h-1

Graus de liberdade dentro de grupos = h (n-1)

Graus de liberdade totais = (h-1) + (N-1)

h – nº de grupos

n – nº de réplicas de cada grupo

N – nº total de réplicas

i – índice de cada grupo

j – índice de cada réplica

$(\sum T_i^2/n) - ((T)^2/N)$  – soma dos quadrados entre grupos

$(\sum \sum (x_{ij} - x_{im})^2)$  – soma dos quadrados dentro de grupos

$(\sum \sum x_{ij}^2) - ((T)^2/N)$  – soma dos quadrados total

$((\sum T_i^2/n) - ((T)^2/N)) / (h-1)$  – quadrado médio entre grupos

$(\sum \sum (x_{ij} - x_{im})^2) / (h(n-1))$  – quadrado médio dentro de grupos

$((\sum T_i^2/n) - ((T)^2/N)) / (h-1) / (\sum \sum (x_{ij} - x_{im})^2) / (h(n-1))$  – valor de F

Comparando o valor calculado para o coeficiente ( $F_{calc}$ ) com o valor tabelado ( $F_{tab}$ ), a hipótese nula testa a não diferenciação estatística das médias para  $p=0,05$ . Para que se verifique a hipótese nula, é necessário que o valor de  $F_{calc}$  seja menor que o valor de  $F_{tab}$  ( $F_{calc} < F_{tab}$ ). O valor de  $F_{tab}$  para as condições do problema exemplificado é 3,82 e o valor de  $F_{calc}$  é 14,575. Portanto, rejeita-se a hipótese nula, existindo pelo menos duas médias diferentes.

#### 2.4.1.4) Prova de comparação múltipla de Dunnett

Como o teste  $F$  efectuado na ANOVA não permite saber quais são os grupos cujas médias são diferentes entre si, procede-se a uma prova de comparação múltipla de Dunnett que tem a particularidade de servir para comparar um grupo de controlo com os restantes grupos de concentração. Neste caso compara-se o grupo de controlo que é o grupo das sementes que germinaram sem contaminação, com os grupos cujas sementes germinaram sob a influência de concentrações do contaminante.

O teste de comparação ( $q$ ) depende do cálculo da diferença entre o valor médio do controlo ( $X_A$ ) e de cada um dos outros grupos ( $X_B$ ) e do cálculo do desvio padrão (DP) de toda a amostra. Para cálculo do desvio padrão recorre-se ao valor dos quadrados médios (MS) dentro dos grupos determinado pela ANOVA.

$$q_{calc} = \frac{(X_A - X_B)}{DP}$$

$$DP = \sqrt{\frac{2MS}{n}}$$

Tabela 11 - Cálculo do valor teste estatístico  $q$  (Dunnett).

	$\bar{x}_m$	Diferenças		$(2*MS)/n$	DP	$q_{calc}$	$q_{tab(0,05;28;7)}$
Controlo	24,2	$(x_A - x_B)$					
1%	21,2	Cont-1%	3	1,72	1,31	2,29	2,46
5%	19,8	Cont-5%	4,4	1,72	1,31	3,35	2,46 *
10%	18,8	Cont-10%	5,4	1,72	1,31	4,12	2,46 *
25%	16,2	Cont-25%	8	1,72	1,31	6,1	2,46 *
50%	16,4	Cont-50%	7,8	1,72	1,31	5,95	2,46 *
75%	13,6	Cont-75%	10,6	1,72	1,31	8,08	2,46 *

Condições para teste crítico  $q$ :

$p=0,05$   
 $GL_2=28$   
 $k=7$

\* - diferenças significativas

Para que não existam diferenças significativas (hipótese nula), o valor do teste  $q$  calculado ( $q_{calc}$ ) terá que ter um valor inferior ao valor crítico tabelado ( $q_{tab}$ ).

Analisando os resultados verifica-se que apenas a média do efeito relativa ao grupo de concentração de 1% é que estatisticamente não tem diferenças significativas relativamente ao grupo de controlo, ou seja, essa é a concentração mais alta para a qual não se fazem ainda sentir os efeitos do contaminante testado (NOEC). O grupo de concentração 5% é o primeiro grupo para o qual já existem diferenças significativas em relação ao grupo de controlo, já provoca efeitos e portanto será o valor de LOEC.

### **3) Trabalho Laboratorial**

#### **3.1) Descrição do trabalho experimental**

Este trabalho teve como objetivo verificar a influência do Pb na germinação e crescimento das plantas, neste caso de sementes de alface lisa (*Lactuca sativa*). Para tal, foram recolhidas amostras de solo agrícola isento de contaminação por Pb porque a recolha se efectuou a uma distância de mais de 100 m de uma via de comunicação.

Numa primeira fase foi feita a recolha das amostras de solo, e já nas instalações da Escola Superior de Tecnologia de Tomar procedeu-se ao tratamento e preparação das mesmas para serem usadas na germinação das sementes, que estiveram em incubação durante um período de 5 dias (120 horas). Para isso as amostras de solo foram contaminadas por diversas concentrações de nitrato de Pb. Numa segunda fase foi feita a contagem das sementes germinadas, que de seguida foram medidas e pesadas com o intuito de nelas observar os efeitos ecotoxicológicos da exposição ao Pb durante o período de germinação.

#### **3.2) Material e métodos**

##### **3.2.1) Amostras e sua recolha**

Os critérios iniciais para a recolha da amostra a utilizar relacionaram-se com uma localização suficientemente afastada de uma via de comunicação para que seja isenta da presença de Pb, exceto da concentração de fundo mas cujo tipo de solo se estenda até uma via de comunicação com bastante tráfego para que outra amostra possa ser recolhida na berma, onde a deposição de contaminantes é mais intensa, sendo as comparações possíveis com a fração de solo não contaminada. Assim sendo, foi utilizado um solo de um terreno junto da N118 na zona de Almeirim com intensa utilização agrícola. Foi tido em conta o vento, uma vez que este influencia a deposição das partículas de Pb emitidas pelos automóveis. Sendo os ventos de Noroeste os dominantes naquela região, com uma frequência de 44,3% (Monteiro, 1985). Procedeu-se à recolha de uma amostra de solo a uma distância de mais de 100 metros da via de comunicação e a montante da estrada em relação à direcção predominante dos ventos e portanto, julgada isenta de contaminação das

viaturas que circulam na estrada. Foi feita também uma segunda recolha de uma amostra de solo, mas desta vez no outro lado da via, a 1m desta.



Figura 10 – Imagem da zona de recolha das amostras do solo (fonte – Google Earth)



## Material

- Pá
- Balde
- Sacos para armazenagem do solo

## Procedimento

As recolhas não foram feitas segundo algum protocolo, uma vez que estas não precisavam de nenhum critério específico de amostragem além dos já referidos. O solo recolhido foi colocado em sacos para o transporte.



Figura 11 – Local da recolha da amostra de solo junto à estrada (fonte: o autor)





Figura 12 – Local da recolha da amostra de solo não contaminado (fonte: o autor)

### 3.2.2) Tratamento das amostras

Após a recolha de solo e já nas instalações do IPT, procedeu-se a uma tamisação com um crivo de 2 mm para retirar os elementos mais grosseiros tais como restos de vegetação e grãos de grande granulometria. De seguida, a amostra de solo foi homogeneizada num moinho de esferas mas sem as esferas. A rotação do tambor do moinho durante 30 minutos proporciona uma excelente homogeneização. Para volumes de amostra maiores, normalmente é usada uma betoneira de forma igualmente eficaz.

#### **Material**

- Crivo de 2mm
- Moinho de esferas

## **Procedimento**

Estes processos não seguiram nenhuma norma específica, sendo o solo peneirado manualmente e colocado no moinho durante 30 minutos, confirmando-se visivelmente a homogeneização da amostra.

### **3.2.3) Determinação da granulometria das amostras de solo**

Um dos parâmetros determinados em relação ao solo, foi determinação da sua granulometria, uma vez que esta influência a taxa de absorção de Pb pelo solo. Quanto mais pequenas forem as partículas, maior é a área de contacto destas aumentando assim a taxa de adsorção. Para a classificação do solo quanto à granulometria procedeu-se a um processo de peneiração do solo, baseado na NP 1379 de 1976. Este processo foi realizado 2 vezes para uma maior robustez do resultado.

## **Material**

- Peneiro automático
- Balança analítica
- Material corrente de laboratório

## **Procedimento**

- Pesaram-se 300 g de solo seco;
- Este é colocado num peneiro automático, constituído por nove peneiros sendo eles de 2; 1,5; 1; 0,710; 0,500; 0,250; 0,125; 0,063; 0,002 mm, estando no topo o de maior dimensão de abertura de malha (2 mm) e assim sucessivamente;



Figura 13 – Peneiro automático (fonte: o autor)

- A peneiração é dada como terminada quando, durante 1 min, não passar mais de 1% do material retido nos peneiros;



Figura 14- Peneiro automático, em que se pode observar solo num dos seus peneiros. (fonte: o autor).

- É pesado o solo que se encontra em cada peneiro e registado esse valor.



Figura 15 - Pesagem do solo retido num dos peneiros. (fonte: o autor).

### 3.2.4) Contaminação das amostras

Para a contaminação artificial de solo com Pb, foi utilizado o solo isento de contaminação por Pb. A contaminação feita com nitrato de Pb ( $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ). Foram preparadas 20 soluções com as seguintes concentrações de Pb: 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1; 2; 4; 6; 8; 10; 20; 40; 60; 80; 100; 500; 1000; 1500; 2000 mg/L em Pb. Volumes iguais de solução foram colocados em contacto com iguais massas de solo a contaminar. Inicialmente, foi determinada a quantidade de solo necessária para se proceder à germinação de 6 repetições da sementeira por cada concentração de solo contaminado e ainda para a repetição completa dessa sementeira caso fosse necessário. Verificou-se que cerca de 300 g de solo seriam necessárias para cada concentração em estudo.

Cada solução contaminante foi preparada num volume de 1500 mL, no qual foi colocado o solo. O processo de contaminação artificial foi adaptado de Yip *et al.*, 2009.

#### Material

- Material corrente de laboratório

## Reagentes

- Nitrato de Chumbo ( $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ )

## Procedimento

- As soluções contaminantes foram preparadas por diluição a partir de uma solução-mãe. A concentração da solução-mãe é igual à mais alta concentração a utilizar na contaminação (2000 mg/L);
- Após calculado o volume necessário de solução mãe para preparar todas as 20 soluções contaminantes, concluiu-se que 5000 mL de solução-mãe seriam suficientes, para preparar todas as diluições. A solução mãe foi preparada a partir de 15,985 g de  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  dissolvidos em água destilada;
- Perfez-se o volume de 5000 mL com água destilada;
- As soluções diluídas foram preparadas numa diluição para 1500 ml



Figura 16 - Copos com respectivos volumes de solução mãe, para obtenção de soluções com várias concentrações, resultantes de diluições da solução mãe. (fonte: o autor)



- As soluções são colocadas numa zona que não estejam muito sujeitas à luz;
- A cada solução adicionaram-se 300 g de solo homogeneizado, que durante uma semana esteve sujeito a várias agitações manuais e durante este processo, com um coador, foram retiradas sementes e restos vegetais que subiam à tona da solução;
- Após a semana de agitações periódicas, as soluções foram deixadas em repouso durante 3 semanas;



Figura 17 - Solo durante o processo de contaminação por contacto com soluções de Pb. (fonte: o autor)

- Ao fim das 3 semanas em repouso as soluções foram decantadas e o solo sedimentado foi colocado em recipientes individuais, devidamente etiquetados e levados à estufa para secagem a 105°C durante 24 horas;



Figura 18 – Solo após decantação pronto para secagem na estufa (fonte: o autor)

- Após a secagem, o solo foi pulverizado recorrendo a um almofariz, uma vez que depois de seco este se encontrava compactado e agregado;
- Por fim, os solos contaminados foram guardados em sacos individuais (para não se perder massa nem para este ficar sujeito a contaminações), para posterior utilização nas sementeiras.

### **3.2.5) Determinação do chumbo adsorvido pelo solo por ICP-AES e por AAS**

ICP-AES (Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrometry), em português Espectrometria de Emissão Atômica por Plasma Acoplado Indutivamente, é uma técnica de análise química indicada para a análise de elementos em diferentes matrizes sólidas, líquidas, orgânicas e inorgânicas, águas, ligas metálicas, produtos de síntese/farmacêuticos ou outros, na gama de concentração de ppb-ppm ( $\mu\text{g/L}$ - $\text{mg/L}$ ), presentes em qualquer matriz que seja solúvel em meio aquoso (ácido, básico ou salino). O ICP permite a análise de praticamente todos os elementos químicos (que exibam bandas de

emissão de sensibilidade adequada) na gama de 180-800 nm, com limites de detecção de concentração até aos ppb ( $\mu\text{g/L}$ ) para a maioria dos elementos e a análise simultânea até 73 elementos numa amostra única (Faculdade de Ciências e Tecnologia, 2015).

AAS (Atomic Absorption Spectroscopy) em português Espectrometria de Absorção Atômica, também chamada de Espectrofotometria de Absorção Atômica é uma técnica de execução rápida e fácil com uma sensibilidade extremamente alta (especialmente para elementos como Pb, Cd, Cu e Cr). A amostra é atomizada numa chama, através da qual passa radiação com comprimento de onda adequado a cada elemento a analisar (fonte - lâmpada de cátodo oco). A quantidade de radiação absorvida é uma medida quantitativa da concentração do elemento a ser analisado. A amostra é lançada na chama que atinge temperaturas que variam entre 2100-2300 °C. Durante a combustão, os átomos da amostra são reduzidos ao estado atômico. Um feixe de radiação é emitido por uma lâmpada cujo cátodo é feito do elemento a ser determinado. A radiação após atravessar a chama passa por um monocromador e atinge o detector. Os átomos livres no estado fundamental absorvem radiação a comprimentos de onda característicos de cada elemento. A redução de energia da radiação no comprimento de onda característico do analítico é uma medida da quantidade desse elemento na amostra (Faculdade de Ciências e Tecnologia, 2015).

Quase todas as interferências encontradas na espectroscopia de absorção atômica podem ser reduzidas ou completamente eliminadas pelos seguintes procedimentos (Vogel *et al.*, 2002):

- Usar se possível, padrões e amostras de composição semelhante para eliminar os efeitos de matriz (ajuste de matriz).
- Alterar a composição da chama ou sua temperatura para reduzir a formação de compostos estáveis na chama
- Selecionar raias de ressonância que não sofram interferência espectral de outros átomos ou moléculas e de fragmentos moleculares.
- Separar por extração com solventes ou processos de troca iônica o elemento interferente. Este procedimento é mais necessário na espectroscopia de emissão de chama.
- Usar um método de correção de radiação de fundo.





Figura 19 – Espectrofotômetro de absorção atômico usado na análise (fonte: o autor)

A quantidade de Pb efectivamente absorvida pelo solo durante o processo de contaminação artificial era desconhecida. Foi necessário determinar a concentração nas amostras contaminadas artificialmente e para isso utilizou-se os métodos analíticos referidos: ICP-AES para as concentrações na solução abaixo de 5 ppm e AAS para as concentrações mais altas.

A determinação do Pb nos solos contaminados artificialmente passa um processo de extracção que inclui uma digestão ácida usada para sedimentos, lamas e solos, com o intuito de extrair das partículas dos solos o Pb. Para a realização da etapa de digestão ácida, foi necessária uma amostra seca de cada solo contaminado artificialmente, do solo recolhido junto à estrada e também uma amostra de solo isento de contaminação para ser usada como controlo. Todas a amostras digeridas e o duplicado correspondente, perfizeram um total de 44 extracções para a leitura através de ICP-AES e de AAS. Este processo de digestão ácida foi feito segundo o Standard Methods, 1996.

## **Preparação das amostras para análise**

### **Material**

- Material corrente de laboratório
- Placas de aquecimento
- Papel de filtro Whatman nº 41
- Espectrofotômetro de absorção atômico

### **Reagentes**

- Ácido Nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) (concentrado)
- Peróxido de Hidrogénio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) (30%)
- Ácido Clorídrico ( $\text{HCl}$ ) (concentrado)

### **Procedimento**

- Colocar 1 g de solo seco num Erlenmeyer de 250 mL;
- Adicionar 10 mL de  $\text{HNO}_3$  (concentrado), colocar na placa de aquecimento a 90-95°C e deixar em refluxo durante 10-15 min;
- Retirar da placa e deixar arrefecer;
- Adicionar 5 mL de  $\text{HNO}_3$  (concentrado) e colocar na placa de aquecimento a 90-95°C e deixar em refluxo durante 30 min;
- Repetir este processo enquanto surgirem fumos de cor castanha.



Figura 20 - Erlenmeyer com presença dos fumos castanhos. (fonte: o autor)

- Deixar na placa de aquecimento a 90-95°C a evaporar até ficar com um volume de 5 mL, ou então deixar na placa à mesma temperatura durante 2 horas;
- Em todos os passos anteriores manter o Erlenmeyer tapado com um vidro de relógio para permitir refluxo;
- Depois de arrefecer adicionar 2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30%) e voltar a aquecer a 90-95°C fazendo novas adições de 1 mL até deixar de se observar efervescência. Não se pode adicionar mais de um total de 10 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$ ;
- Deixar arrefecer e adicionar 10 mL de HCl (concentrado) e aquecer a 90-95°C durante 15 min;



Figura 21 - Aquecimento da solução após a adição do HCl e liberação de cloro. (fonte: o autor)

- Filtrar com papel de filtro Whatman nº41 para um balão de 100 mL;
- Adicionar porções de água destilada até 50 mL para lavar o Erlenmeyer e para lavar o resíduo dentro do funil;
- Adicionar água destilada até perfazer o volume do balão de 100 mL.

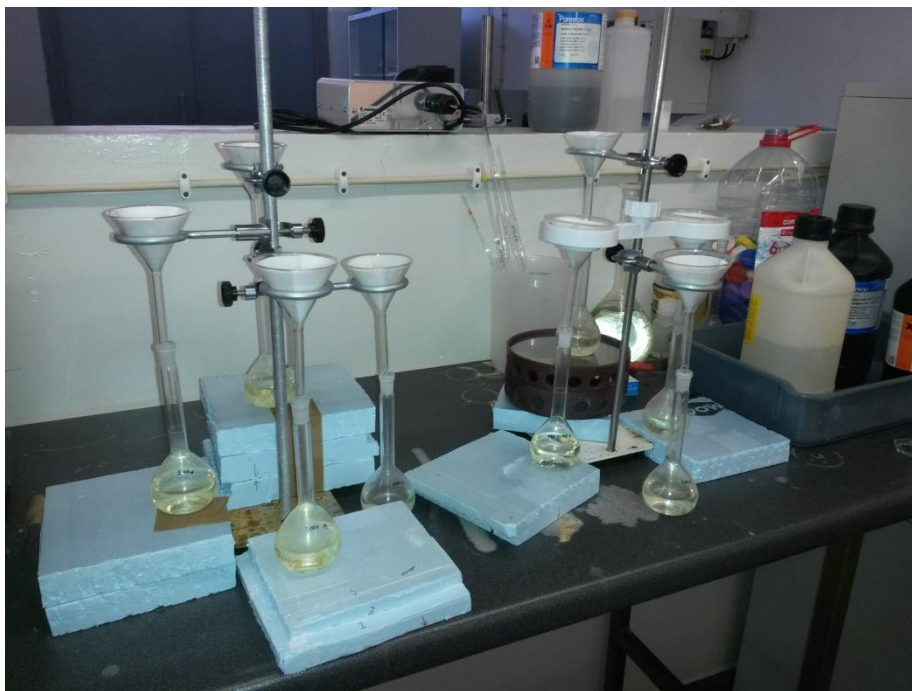


Figura 22 - Filtração após digestão para extracção do Pb. (fonte: o autor).

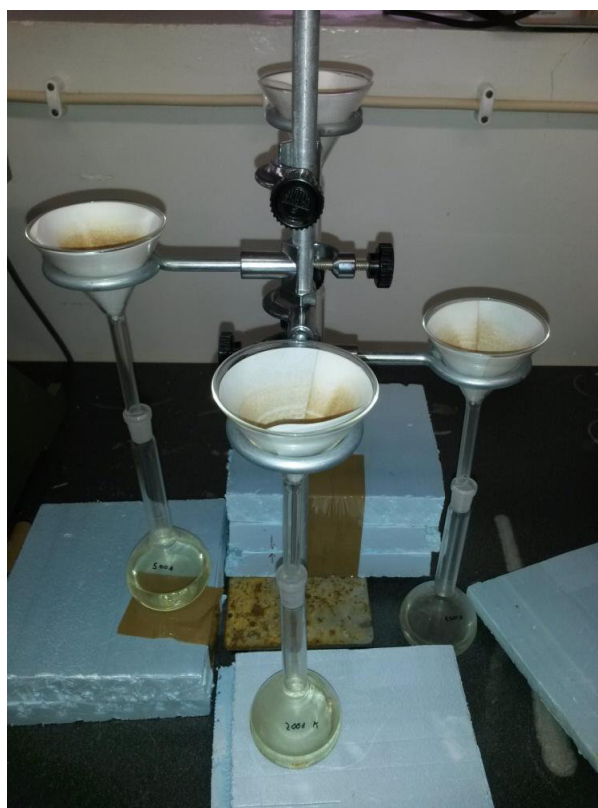


Figura 23 - Filtração após digestão para extracção do Pb. (fonte: o autor).

Após a etapa de digestão ácida, as soluções resultantes estão prontas para a análise. As soluções mais concentradas em Pb foram analisadas pelo método de AAS na Universidade de Salamanca, tendo sido necessária também a preparação de padrões (ver anexo B) para estabelecer a recta de calibração. Outra parte das amostras foram analisadas por ICP-AES no Centro de Análise da Universidade de Aveiro, isto porque as amostras que foram analisadas por este método continham concentrações demasiado baixas para o limite de detecção do aparelho de AAS.

### 3.2.6) Preparação das sementeiras

Cada uma das 20 concentrações de solo contaminado testado nas sementeiras de *Lactuca sativa* foi feita com 6 repetições e mais um ensaio de controlo. O mesmo procedimento foi feito para a amostra de solo recolhida junto à estrada. A água utilizada nas sementeiras foi água engarrafada, isto para evitar o tratamento com cloro da água da rede e a composição desconhecida de águas superficiais. O procedimento adaptado a partir da norma ISO 17126:2005-02 (E). O ensaio ecotoxicológico desta norma é feito com papel de filtro e com uma solução aquosa contendo nutrientes a partir da qual se preparam as diversas concentrações do contaminante a testar. No presente trabalho foi usado solo contaminado porque o foco de interesse não é abordar o problema da contaminação com Pb do ponto de vista da água de rega mas antes do ponto de vista da contaminação dos solos. O ensaio com papel de filtro encerra menos variabilidade e resultados mais robustos do ponto de vista estatístico, no entanto, pretende-se compensar a variabilidade do ensaio de germinação directa no solo com um aumento de repetições, usando 6 em vez das 3 que são normalmente aconselhadas.

#### Material

- Material corrente de laboratório
- Balança analítica
- Sementes de *Lactuca sativa*, calibradas e optimizadas para 100% de germinações.
- Parafilm
- Incubadora

## Procedimento

- Pesam-se 20g de solo e colocam-se numa caixa de Petri;
- Adicionam-se 7 mL de solução contaminada com Pb ou, no caso do controlo, apenas água sem contaminante. O ambiente de germinação tem que ser necessariamente húmido;
- De seguida colocam-se 20 sementes de *Lactuca sativa* igualmente espaçadas sobre a amostra de solo;



Figura 24 – Sementeira e disposição das sementes (fonte: o autor)



Figura 25 – Sementeira (fonte: o autor)



- A parte inferior da caixa de Petri com o solo e as sementes é selada com *Parafilm* e o conjunto é fechado com a metade superior da caixa;
- As caixas fechadas colocam-se numa incubadora escura termoestatizada a 22°C durante 120 horas;



Figura 26 – Sementeiras na incubadora (fonte: o autor)

- Depois de decorrido o tempo de ensaio, as caixas retiram-se da incubadora e colocam-se na arca frigorífica para posterior contagem e medição das sementes germinadas;
- Considera-se como critério de germinação a aparição visível da radícula.





Figura 27 - Contagem das sementes germinadas e sua medição. (fonte: o autor)



Figura 28 – Medição de sementes germinadas (fonte: o autor)



## 4) Apresentação e Discussão de Resultados

### 4.1) Classificação das amostras de solo quanto à granulometria

#### Análise granulométrica de sedimentos

##### Apresentação gráfica e análise estatísticas das curvas

1. Curva de frequência cumulativa – gráfico de frequência (% cumulativa) versus valores  $\phi$  (phi) (ou seja, valor de  $\phi$  = valor do diâmetro máximo da malha do peneiro  $-\log_2$  em mm). Neste gráfico os diâmetros das partículas diminuem para a direita.

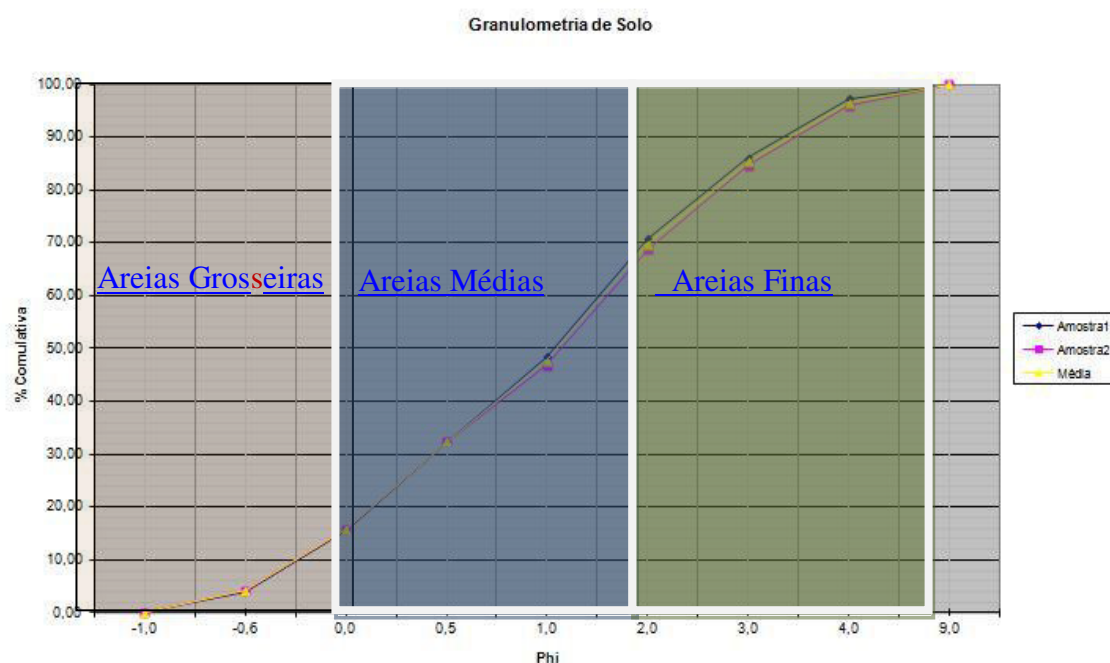


Figura 29 - Gráfico das percentagens de solo em função da sua granulometria. (fonte: o autor).

Neste gráfico podemos verificar que o solo é maioritariamente composto por areias médias (54%), sendo as areias grossas e as finas as menos presentes com 16% e 30% respectivamente. Trata-se de um solo com grande maioria de partículas médias e finas (84%).

## 2. Análise de atributos da curva:

- A medida de tendência central

Vulgarmente é utilizado o valor da mediana de  $\phi$  que corresponde a 50% da distribuição do tamanho das partículas de amostra -  $Md\phi$

- Uma medida do grau de dispersão

**Incluindo uma representação gráfica do desvio padrão:**

$$\sigma_1 = \frac{\phi_{84} - \phi_{16}}{4} + \frac{\phi_{95} - \phi_5}{6,6}$$

$$\sigma_1 \cong 1,4$$

Onde:

<0,35      Muito bem classificados

0,35 a 0,50    Bem classificados

0,50 a 0,71    Moderadamente bem classificados

0,71 a 1,00    Moderadamente classificadas

1,00 a 2,00    Mal classificadas

2,00 a 4,00    Muito mal classificados

> 4,00      Extremamente mal classificadas

- A medida de grau de simetria

**Assimetria gráfica incluída** - avalia predominância da fração de sedimentos específicos

$$Sk_1 = \frac{\phi_{16} + \phi_{84} - 2\phi_{50}}{2(\phi_{84} - \phi_{16})} + \frac{\phi_5 + \phi_{95} - 2\phi_{50}}{2(\phi_{95} - \phi_5)}$$

$$Sk_1 \cong 0,24$$

Onde:

1,00 a 0,30 Fortemente enviesada fina

0,30 a 0,10 Fina enviesada

0,10 a -0,10 Simétrico

-0,10 a -0,30 Grosseiro enviesado

-0,30 a -1,00 Fortemente grosseiro enviesado

**Kurtosis** - avalia os desvios a partir da distribuição normal (ou seja, se a distribuição é excessivamente enviesada - leptocúrtica - ou plana- platicúrtica)

$$K_G = \frac{\phi_{95} - \phi_5}{2,44(\phi_{75} - \phi_{25})}$$

$$K_G \cong 0,89$$

Onde:

<0,67 Muito platicúrtica

0,67 a 0,90 Platicúrtica

0,90 a 1,11 Mesocurtica (quase normal)

1,11 a 1,50 Leptocúrtica

> 1,50 Muito leptocúrtica

O solo recolhido poderá ser caracterizado como um solo mal classificado quanto à dispersão de partículas com uma enorme assimetria gráfica grosseira enviesada e uma curva platicurtica, sendo a amostra caracterizada por areias médias e grosseiras.

#### **4.2) Efeitos ecotoxicológicos nas germinações pela acção do Pb**

O objectivo deste trabalho é verificar qual a concentração máxima de Pb no solo que não provoca efeitos na germinação e qual a concentração mínima a partir da qual já se fazem sentir efeitos na germinação. O efeito medido é o tamanho do crescimento da radícula e do caule. Para obter tais resultados é necessária uma análise de variância (ANOVA) para verificar se a média do tamanho das germinações das sementes de *Lactuca sativa* sujeitas às diferentes concentrações de Pb no solo são ou não diferentes da média do tamanho das germinações do grupo de controlo não sujeito ao efeito toxicológico do Pb. Previamente ao teste ANOVA é necessário verificar se existe normalidade na distribuição dos tamanhos e se existe homogeneidade de variâncias. Para tal usam-se respectivamente o teste de Shapiro-Wilk e o teste de Levene. Posteriormente, se o teste ANOVA indicar que existem grupos de concentrações estatisticamente diferentes do grupo de controlo, é necessário usar o teste de Dunnett para confirmar exactamente quais os grupos que são diferentes e portanto qual a concentração a partir da qual o efeito toxicológico do Pb no solo se começa a fazer sentir na germinação.

Todos os resultados foram obtidos a partir do programa de computador IBM® SPSS® Statistics versão 15. Apresentam-se abaixo os quadros resumo e os gráficos debitados pelo programa nas diferentes fases de análise estatística.

As rectas de calibração do aparelho de absorção atómica da Faculdade de Ciências Agronómicas da Universidade de Salamanca faz uma calibração interna não devolvendo os resultados da recta de calibração. Os resultados obtidos para a determinação das concentrações reais de Pb nos solos contaminados artificialmente apresentam-se na Tabela 12.

Os resultados toxicológicos do efeito da presença de Pb nas germinações das sementes de *Lactuca sativa* apresentam-se na Tabela 12.

Tabela 12 - Concentrações de Pb no solo e respectivos tamanhos médios da radícula e do neles germinados.

<b>Concentração real de Pb no solo (mg/kg)</b>	<b>Tamanho médio das germinações (mm)</b>	<b>Desvio Padrão</b>
0 (controlo)	46,28	11,88
17,0	46,34	10,17
19,1	45,58	9,76
20,4	45,97	8,45
21,7	45,22	10,83
22,9	45,90	8,21
26,7	44,76	10,74
31,3	44,53	7,27
42,3	45,95	9,74
44,6	44,24	12,35
49,1	44,52	8,02
52,8	45,85	11,16
86,4	45,20	11,11
223,5	45,54	9,07
299,7	44,76	10,50
351,2	42,40	9,50
486,3	40,33	9,25
1317,2	38,63	9,53
5896,0	34,76	7,41
6899,6	26,68	4,37
8446,8	17,24	3,78

#### 4.2.1) Teste de normalidade de Shapiro-Wilk

O teste de normalidade de Shapiro-Wilk testa a hipótese nula ( $H_0$ ) de que a distribuição é normal, rejeitando-se esta hipótese quando o valor da probabilidade (p) é inferior a 0.05 ( $p < 0,05$ ). O relatório do SPSS chama “Sig.” a este valor p obtido (determinado). O valor de p obtido é arredondado para 0 quando é inferior a 0,01 o que significa que a distribuição não é normal.

A tabela 13 apresenta os resultados obtidos no SPSS após serem inseridos os dados dos 21 grupos de concentração de Pb no solo e dos respectivos tamanhos da germinação das sementes de *Lactuca sativa*.

Tabela 8 – Resultado do teste de normalidade Shapiro-Wilk para os tamanhos obtidos nos grupos de concentração estudados (Relatório de resultados do *output* do SPSS).

Tests of Normality to 21 grups						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Tamanho	,077	1691	,000	,965	1691	,000

a. Lilliefors Significance Correction

O facto de a distribuição não ser normal não é condição impeditiva para aplicação do teste ANOVA, em especial porque a distribuição pode ser bastante aproximada a uma distribuição normal embora de facto, de acordo com o teste, não o seja. Para poder avaliar melhor e continuar, é possível socorreremo-nos de uma avaliação do valor z para a curtose (medida de dispersão que caracteriza o achatamento da curva) e para a obliquidade ou “skewness” (medida que caracteriza a assimetria da curva) ou ainda através de uma avaliação visual através da distribuição dos tamanhos obtidos num gráfico de frequências, num gráfico “*plot Q-Q*” ou num gráfico “*box plot*”.



Tabela 9 - Estatística descritiva dos tamanhos obtidos para os 21 grupos de concentrações de Pb (Relatório de resultados do *output* do SPSS).

Descriptives 21 grups		
	Statistic	Std. Error
Mean	41,0770	,30033
95% Confidence Interval for Lower Bound	40,4879	
Mean Upper Bound	41,6660	
5% Trimmed Mean	41,4662	
Median	43,4300	
Variance	152,522	
Tamanho Std. Deviation	12,34998	
Minimum	4,62	
Maximum	68,26	
Range	63,64	
Interquartile Range	18,59	
Skewness	-,511	,060
Kurtosis	-,526	,119

Os itens debitados no relatório (output) do SPSS incluem a obliquidade e a curtose (ver Tabela 14) cujos valores estatísticos devem ser o mais próximo de 0 (zero) possível mas sobretudo não podem ser maiores do que o respectivo valor de erro padrão (std. error). Estas premissas não são totalmente cumpridas, apenas em parte. No entanto, normalmente as distribuições são frequentemente curtóticas e obliquas e portanto é necessário determinar o valor z para melhor poder avaliar a normalidade. O valor z obtém-se através da divisão do valor estatístico da obliquidade e da curtose pelos seus respectivos valores de desvio-padrão, devendo o valor de z obtido encontrar-se entre os valores de -1,96 e de +1,96.

$$z (\text{obliquidade}) = 5.11/0.06 = 85,16$$

$$z (\text{curtose}) = 0.526/0.119 = 4,42$$

Os valores de z revelam falta de normalidade que podemos confirmar visualmente no histograma de frequências da Figura 30 em que se nota alguma obliquidade à esquerda.

O valor de  $z$  que mais escapa ao intervalo de aceitação é precisamente o relativo à obliquidade. O valor de  $z$  da curtose, embora fora do intervalo de aceitação já apresenta um valor relativamente próximo.

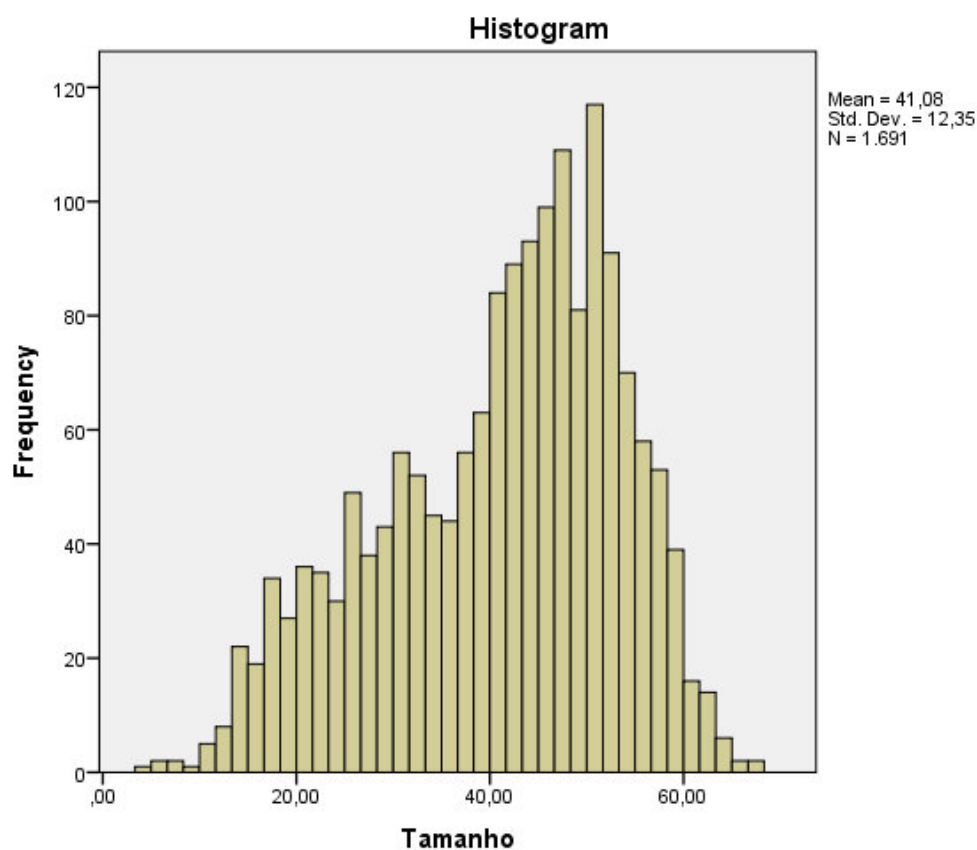


Figura 30 - histograma de frequências para os tamanhos dos 21 grupos de concentrações (Relatório de resultados do *output* do SPSS)

O gráfico (*Q-Q plot*) é um método gráfico para o diagnóstico de diferenças entre a distribuição de probabilidade de uma amostra de uma população e outra usada para comparação esperada como normal. Para que o gráfico mostre uma distribuição normal, a distribuição dos tamanhos das germinações obtidas e a distribuição do tamanho considerada normal, terão que se dispor sobre a linha diagonal que separa as duas distribuições. O gráfico “*Q-Q Plot*” obtido no SPSS para as 21 classes de tamanho

estudadas, mostra que a distribuição dos tamanhos possui alguma normalidade porque não se afasta muito da linha da normalidade mas não pode ser considerada totalmente normal.

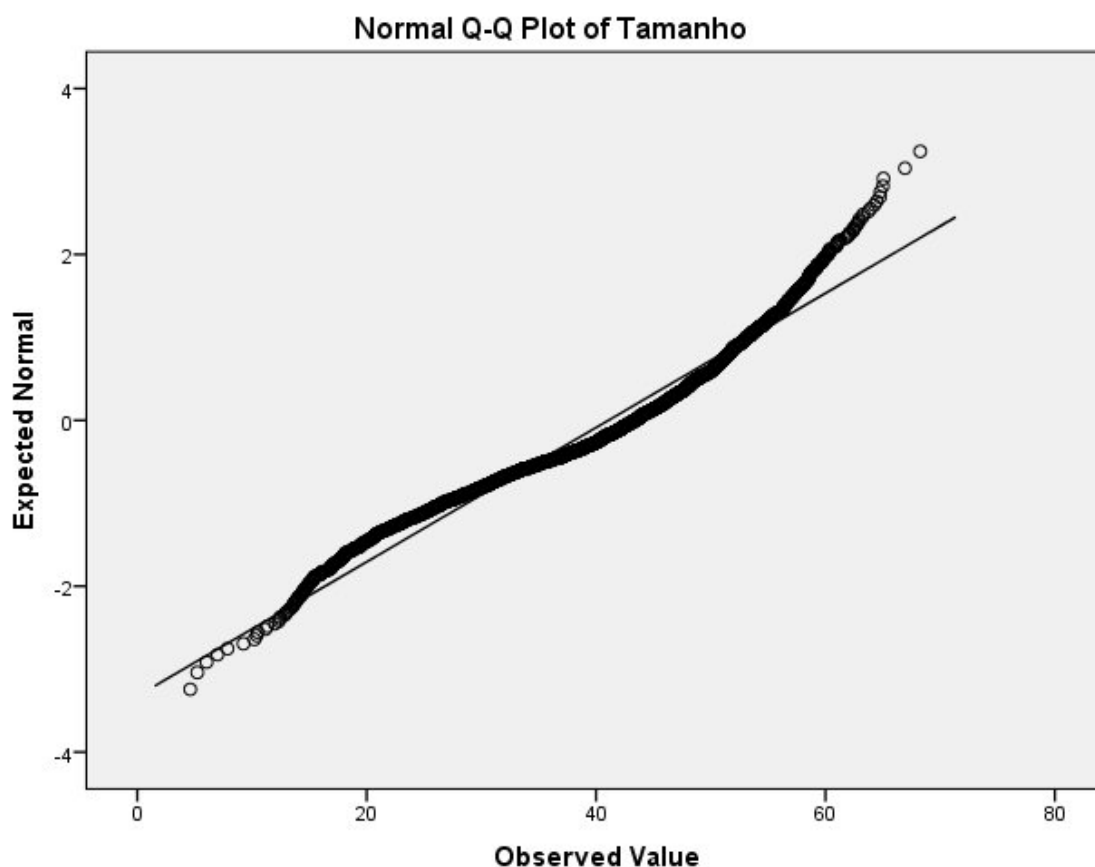


Figura 31 – Gráfico Q-Q de distribuição de normalidade para os tamanhos dos 21 grupos de concentração (Relatório de resultados do *output* do SPSS)

Para terminar a análise visual é possível ainda socorrer-mos do diagrama de caixa (*box plot*) em que a simetria das duas metades definidas pela divisão da caixa revela distribuição normal. Verificamos que não existe simetria e portanto a distribuição dos tamanhos não é normal.

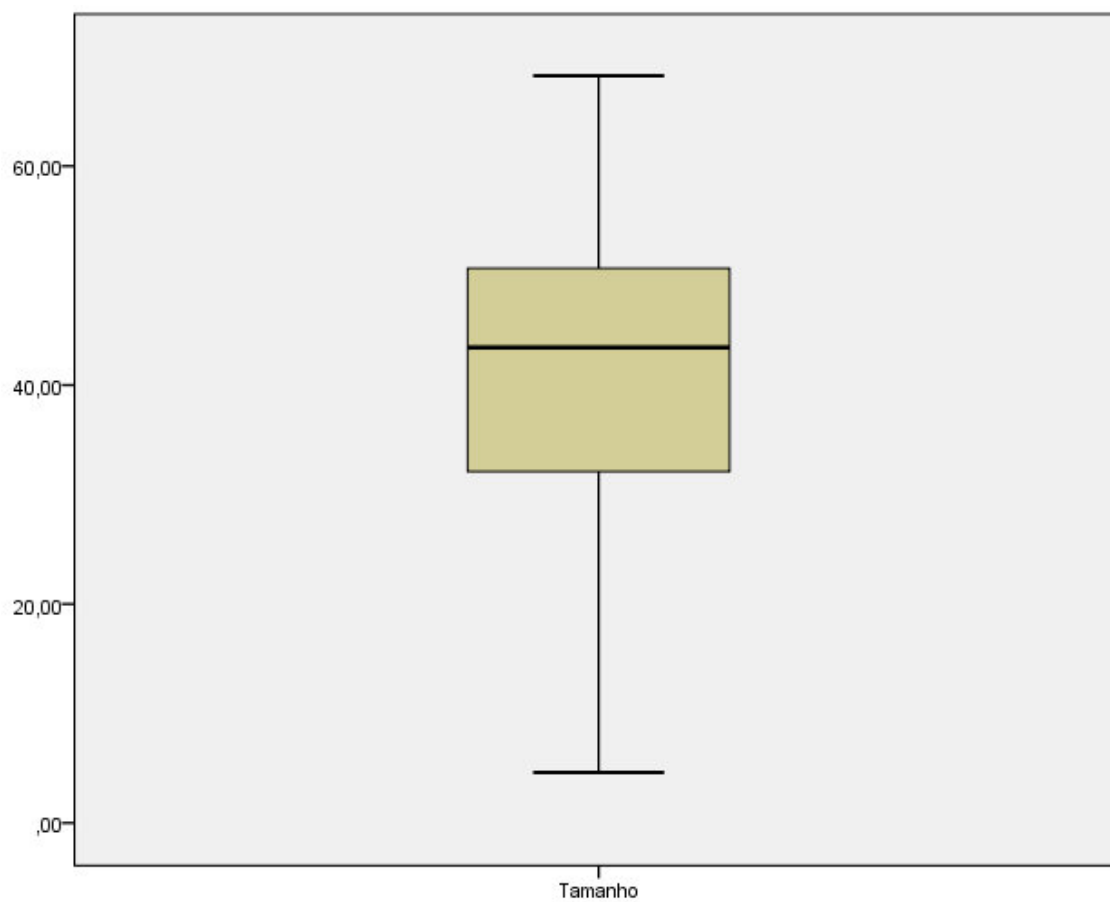


Figura 32 - Diagrama de caixa da distribuição dos tamanhos dos 21 grupos de concentração (Relatório de resultados do *output* do SPSS).

Apesar de as avaliações anteriormente feitas indicarem que não existe normalidade na distribuição dos tamanhos resultantes da contaminação com Pb, também mostram que, em alguns casos, a normalidade não está muito distante.

Por vezes truncar parte da informação menos relevante para o processo pode, do ponto de vista da distribuição da normalidade dos tamanhos, ajudar a obter melhores resultados. A decisão de testar os resultados apenas para as primeiras 16 concentrações foi tomada após a análise do gráfico da Figura 33, onde se observa que a concentração de 351,2 mg/kg corresponde ao primeiro tamanho das germinações sujeitas ao efeito tóxico do Pb que visivelmente se afasta do tamanho das germinações do grupo de controlo. Portanto, podemos admitir que, se compararmos o tamanho da germinação da concentração de 351,2 mg/kg com o tamanho da germinação do grupo de controlo e o

resultado obtido indicar que se trata de tamanhos diferentes, então todos os tamanhos obtidos com concentrações superiores a 351,2 mg/kg serão também diferentes.

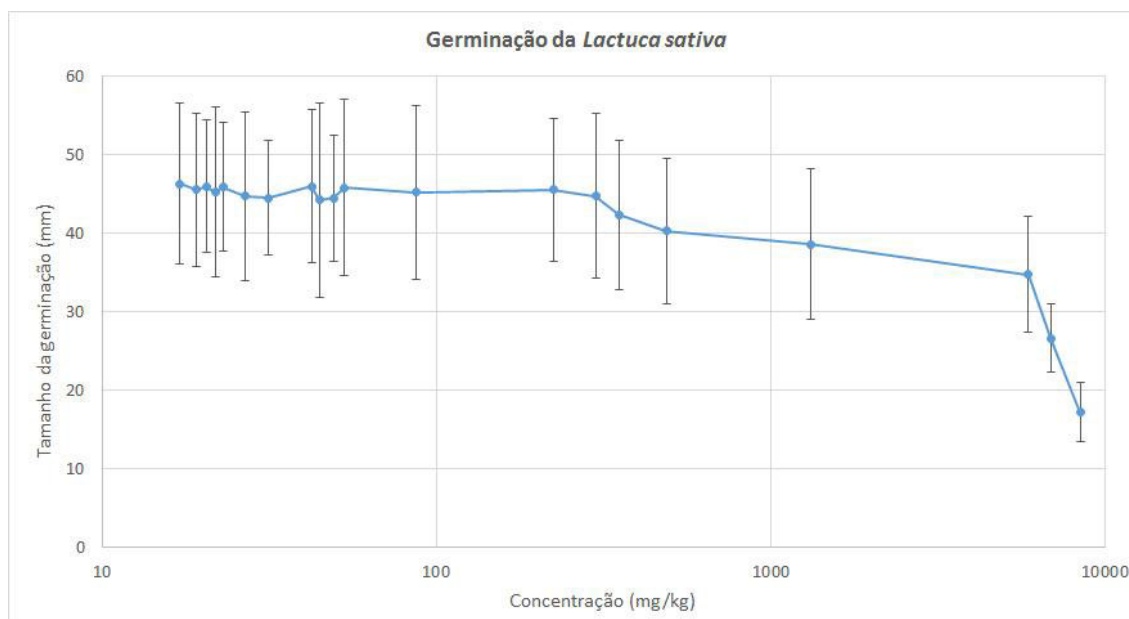


Figura 33 – Gráfico com as germinações e respectivos tamanhos

Assim sendo, no teste de normalidade de Shapiro-Wilk aos primeiros 16 grupos de concentração, o valor de p obtido é arredondado para 0, o que significa que a distribuição continua a não ser normal uma vez que o valor de “Sig.” continua a ser menor do que 0,05.

Tabela 10 - Resultado do teste de normalidade Shapiro-Wilk para os tamanhos obtidos nos 16 grupos  
(Relatório de resultados do *output* do SPSS)

Tests of Normality para 16 grupos						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Tamanhos_16	,072	1224	,000	,963	1224	,000

a. Lilliefors Significance Correction

O passo seguinte é analisar a curtose e a obliquidade, apresentando-se na Tabela 16 os resultados debitados pelo SPSS apenas para os primeiros 16 grupos de concentrações estudadas.

Tabela 11 - Estatística descritiva dos tamanhos obtidos para os 16 grupos de concentrações de Pb (Relatório de resultados do *output* do SPSS)

Descriptives 16 Grupos		Statistic	Std. Error
Tamanhos_16	Mean	45,2156	,29127
	95% Confidence Interval for Lower Bound	44,6441	
	Mean Upper Bound	45,7870	
	5% Trimmed Mean	45,7024	
	Median	46,9100	
	Variance	103,844	
	Std. Deviation	10,19040	
	Minimum	6,04	
	Maximum	68,26	
	Range	62,22	
	Interquartile Range	12,56	
	Skewness	-,740	,070
	Kurtosis	,307	,140

A obliquidade e a curtose debitadas pelo SPSS devem ser o mais próximo de 0 (zero) possível e não serem maiores do que o respectivo valor de desvio-padrão (std. error). Essas duas premissas não se verificam totalmente, sendo assim, é necessário determinar o valor z para melhor poder avaliar a normalidade.

$$z(\text{skewness}) = 0.740/0.07=10.57$$

$$z(\text{kurtosis}) = 0.307/0.140=2,19$$

Os valores de z revelam a falta de normalidade que podemos novamente confirmar visualmente no histograma de frequências em que se nota alguma obliquidade à esquerda.

No entanto, estes valores de z estão bastante mais próximos dos limites de +1,96/ -1,96 do que no caso da utilização dos 21 grupos.

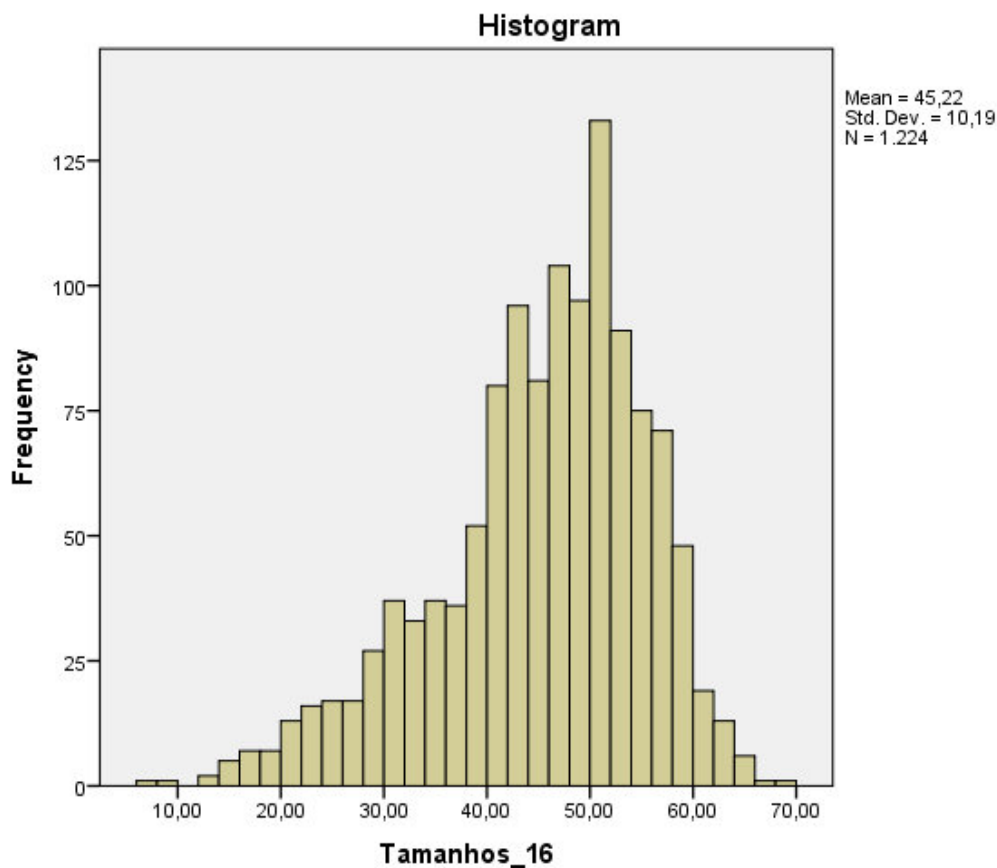


Figura 34 - Histograma de frequências para os tamanhos dos 16 grupos de concentrações (Relatório de resultados do *output* do SPSS)

Da análise do gráfico (Q-Q plot) debitado pelo SPSS, podemos verificar que a distribuição dos tamanhos não é uma distribuição normal mas que também não se afasta muito da linha da normalidade e aparenta ser melhor para os 16 grupos de concentração do que para o caso de 21.

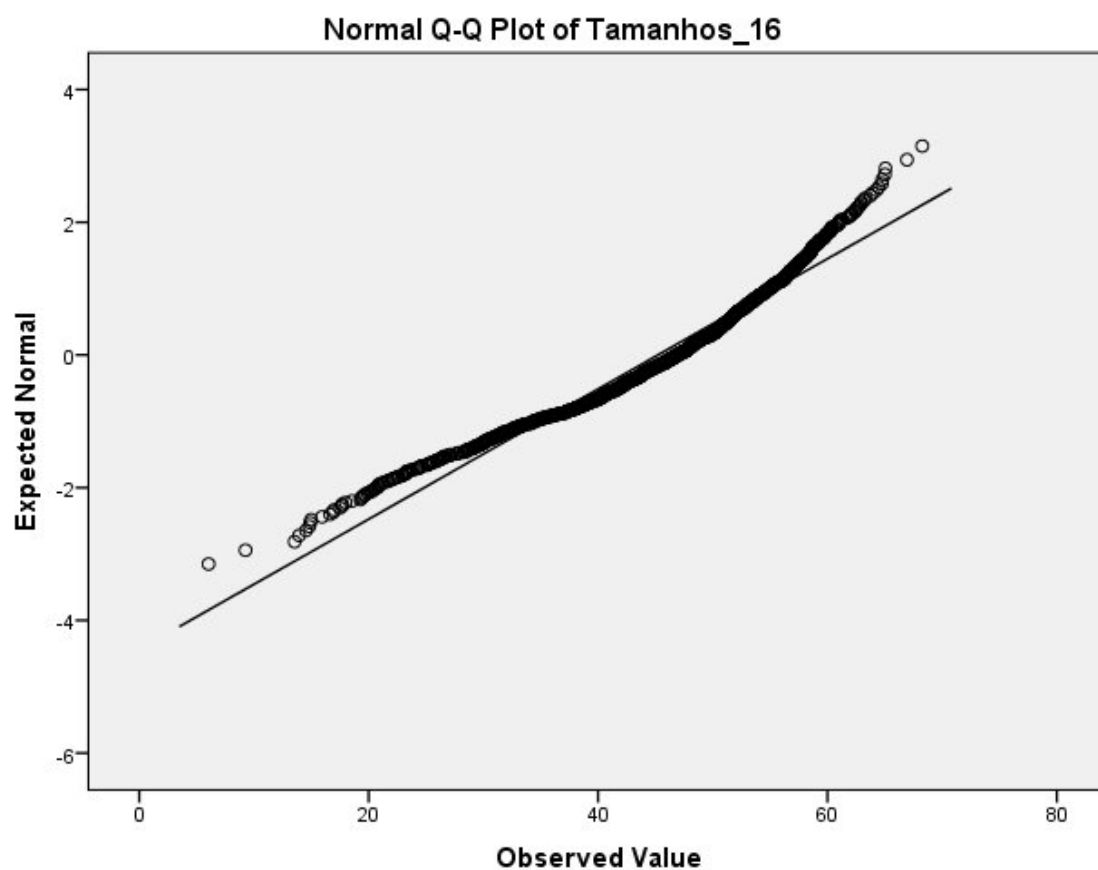


Figura 35 - Gráfico Q-Q de distribuição de normalidade para os tamanhos dos 16 grupos de concentração (Relatório de resultados do *output* do SPSS).

No diagrama de caixa (box plot) debitado pelo SPSS que deve ser simétrico, verificamos que não existe simetria e portanto a distribuição dos tamanhos não é normal embora o diagrama mostre menor desvio à normalidade do que no caso dos 21 grupos de concentrações.



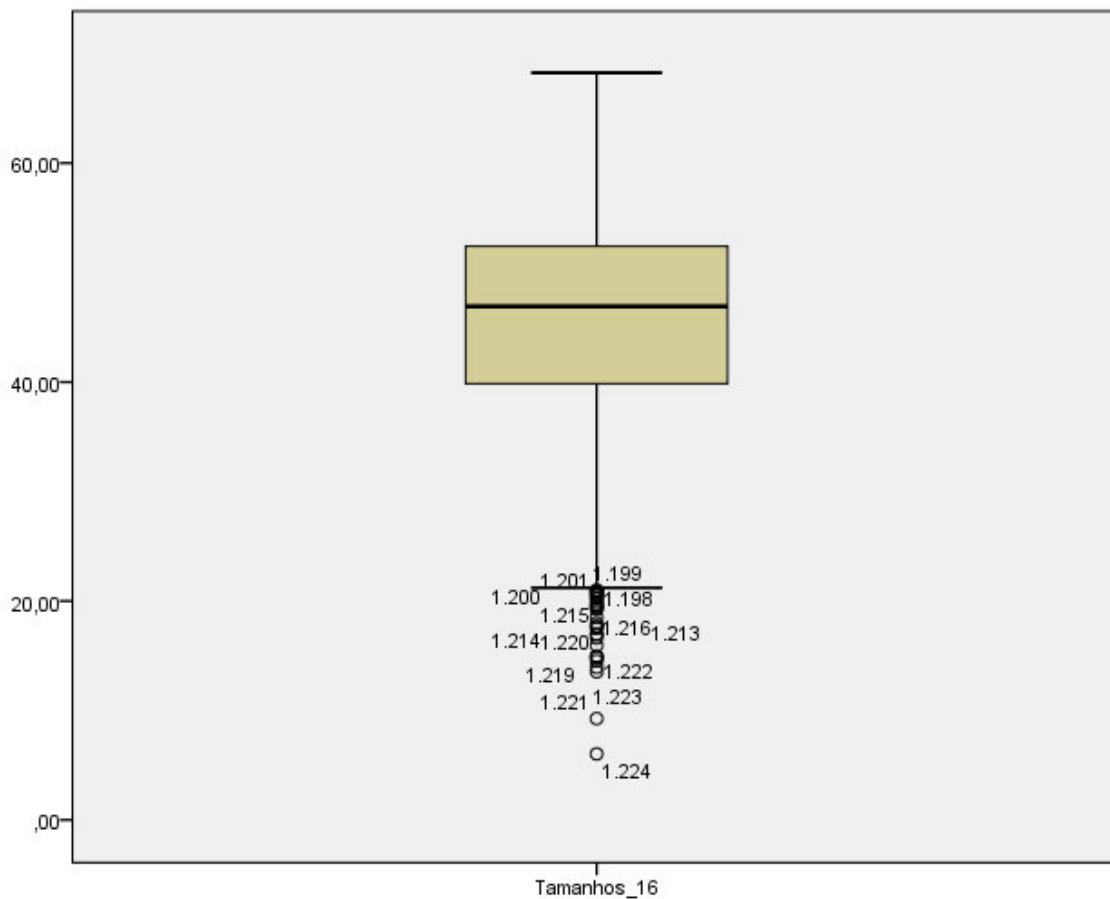


Figura 36 - Diagrama de caixa da distribuição dos tamanhos dos 16 grupos de concentração (Relatório de resultados do *output* do SPSS).

Nem no caso da análise à normalidade com 21 grupos de concentrações nem no outro dos 16 grupos de concentrações existe normalidade mas se compararmos os gráficos de distribuição de frequências, valor z, *plot Q-Q* e *box plot*, verifica-se que em todos os casos, a distribuição que mais se aproxima da normalidade é a que obtemos quando utilizamos apenas os grupos correspondentes às primeiras 16 concentrações.

Não sendo o teste de normalidade impeditivo à execução do teste ANOVA e verificando-se que a normalidade está próxima, avança-se com a opção de testar apenas os 16 primeiros grupos de concentrações.

#### 4.2.2) Teste Leven's à homogeneidade de variâncias

O programa informático IBM® SPSS® Statistics version 21 não determina a prova à homogeneidade de variâncias de Bartlett mas determina Teste Leven que serve para o mesmo efeito. O teste Leven à homogeneidade de variâncias, também não se trata de um teste impeditivo à execução posterior de uma análise de variância (ANOVA) para verificar se há grupos de concentrações com efeito diferentes do efeito do controlo. O SPSS analisa a homogeneidade de variâncias através da avaliação do valor da significância sendo que a hipótese nula  $H_0$  admite homogeneidade de variâncias se o valor da significância for maior do que 0,05 (Sig.>0,05).

Tabela 12 - Resultados do teste estatístico Leven's para aferição da homogeneidade de variâncias obtido por SPSS para os 16 primeiros grupos de concentrações.

```
ONEWAY Tama_médio BY Grupos  
/STATISTICS HOMOGENEITY
```

Test of Homogeneity of Variances			
Tama_médio			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5,782	15	80	,000

Para o caso em análise o valor debitado pelo SPSS para a significância é inferior a 0,05. O programa arredonda a zero (0,000) quaisquer valores inferiores a 0,01. Portanto não se pode considerar que existe homogeneidade de variâncias. Devido a esta aproximação do SPSS, ficamos sem saber se o valor da significância está muito perto de 0,01 ou tem um valor muito mais reduzido. Vamos continuar para verificar mais à frente se é possível obter resultados aceitáveis apesar desta “não conformidade”.

#### 4.2.3) Análise de variância (ANOVA)

O teste de análise de variância permite verificar se existem diferenças no efeito produzido no crescimento das germinações entre pelo menos dois grupos de concentrações estudadas.

Para o SPSS a hipótese nula ( $H_0$ ) é de que os efeitos das concentrações são iguais se o valor da significância for menor do que 0,05 (Sig.>0,05).

Tabela 13 - Análise de variância para os 16 grupos estudados (Relatório de resultados do *output* do SPSS)

ANOVA					
Tama_médio					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	68,648	15	4,577	1,317	,212
Within Groups	277,947	80	3,474		
Total	346,595	95			

A Tabela 18 mostra o resultado debitado pelo SPSS, sendo o valor da significância obtida Sig.=0,212, ou seja Sig.>0,05 sendo rejeitada a hipótese nula. Logo existem pelo menos duas concentrações para as quais os efeitos são estatisticamente diferentes.

#### 4.2.4) Prova de comparações múltiplas de Dunnett

Da etapa anterior sabemos que existem pelo menos duas concentrações em que o efeito das concentrações de Pb que é o tamanho médio da germinação, é estatisticamente diferente. Para saber quais os grupos de concentrações cujos tamanhos médios são diferentes do tamanho médio do grupo de controlo e portanto, sofreram os efeitos da exposição ao aumento da concentração de Pb, aplica-se a prova de comparações múltiplas de Dunnett que é uma análise univariada a todos os grupos de concentrações e ao grupo de controlo através de um teste post-hoc.

Nesta prova, a hipótese nula é a de que para cada grupo de concentrações e para  $p=0,05$ , o valor calculado pela prova de Dunnett (Sig) tem que ser inferior a 0,05. Analisando os resultados apresentados na tabela 19, verifica-se que, com o aumento da concentração de Pb, não existem diferenças estatísticas entre o grupo de controlo e os restantes grupos, excepto para o grupo de concentração 351,2 mg/kg (Sig.=0,024), que é dos grupos estudados, aquele que foi sujeito a maior concentração de Pb. Os restantes 5 grupos de concentração que não foram estudados para facilitar a aproximação à

normalidade, são todos de concentração superior a 351,2 mg/kg. Essas concentrações são: 486,3 mg/kg, 1317,2 mg/kg, 5896,0 mg/kg, 6899,6 mg/kg, 8446,8 mg/kg (Tabela 11) tendo todas sofrido um efeito mais dramático no tamanho médio das germinações e portanto, são também estatisticamente diferentes do controle.

Tabela 14 - – Prova de comparação múltipla de Dunnett (Relatório de resultados do *output* do SPSS)

## Univariate Analysis of Variance

[DataSet0]

C:\Users\User\SkyDrive\1-Aulas\Mestrados\FranclimMedina\Documento  
escrito\Todas as 21conc.sav

### Tests of Between-Subjects Effects

## Post Hoc Tests Grupos

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Tama\_médio

Dunnett t (2-sided)<sup>a</sup>

(I) Grupos	(J) Grupos	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
17,00	,00	-,0127	1,07616	1,000	-3,1313	3,1060
19,10	,00	-,6620	1,07616	1,000	-3,7806	2,4566
20,40	,00	-,3602	1,07616	1,000	-3,4788	2,7585
21,70	,00	-,9797	1,07616	,986	-4,0983	2,1390
22,90	,00	-,6620	1,07616	1,000	-3,7806	2,4566
26,70	,00	-1,3683	1,07616	,861	-4,4870	1,7503
31,30	,00	-1,7195	1,07616	,631	-4,8381	1,3991
42,30	,00	-,3870	1,07616	1,000	-3,5056	2,7316
44,60	,00	-1,9572	1,07616	,467	-5,0758	1,1615
49,10	,00	-1,8670	1,07616	,527	-4,9856	1,2516
52,80	,00	-,6785	1,07616	1,000	-3,7971	2,4401
86,40	,00	-,9472	1,07616	,990	-4,0658	2,1715
223,50	,00	-,9305	1,07616	,991	-4,0491	2,1881
299,70	,00	-1,5558	1,07616	,746	-4,6745	1,5628
351,20	,00	-3,4193*	1,07616	,024	-6,5380	-,3007

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 3,474.

\*. The mean difference is significant at the 0,05 level.

a. Dunnett t-tests treat one group as a control, and compare all other groups against it.

Sendo o grupo de concentração 299,70 mg/kg aquele com maior concentração cujo efeito ainda é estatisticamente igual ao efeito sofrido pelas germinações do controlo e o grupo de concentração 351,20 mg/kg aquele com menor concentração que já é estatisticamente diferente do controlo, podemos concluir que o LOEC = 299,70 mg/kg e o NOEC = 351,20 mg/kg. Ou seja, a concentração a partir da qual se começam a fazer sentir os efeitos tóxicos do Pb na germinação das alfaces encontra-se entre 299,70 mg/kg e 351,20 mg/kg de Pb. Para a obtenção de um resultado com um intervalo de concentrações entre NOEC e LOEC mais apertado seriam necessários ensaios suplementares numa gama de concentrações entre 250 e 400 mg/kg de Pb.

O solo recolhido junto à estrada (1m) também foi sujeito à determinação da contaminação em Pb tendo sido obtido o valor de 14 mg/kg que está muito próximo do valor que a bibliografia define como a concentração ambiental de fundo. As sementes de *Lactuca sativa* sujeitas a germinação neste solo sofreram um efeito médio muito próximo daquele que se obtém com o solo não contaminado com um crescimento da germinação de 44,35 mm tratando-se de um valor de efeito que, de acordo com os resultados obtidos na prova de comparações múltiplas de Dunnett, teria que ser considerado estatisticamente igual ao efeito obtido com o grupo de controlo.

Tabela 15 – Concentração de Pb no solo colhido a 1 m da estrada e tamanho médio das germinações nele efectuadas (Relatório de resultados do *output* do SPSS).

Concentração de Pb no solo (mg/kg)	Tamanho médio das germinações (mm)	Desvio padrão
14,0	44,35	5,04



## 5) Conclusão

A determinação dos pontos finais NOEC e LOEC assume uma importância crescente nos tempos actuais em que se pretende determinar quais as concentrações que começam a ter efeitos nocivos nos organismos em detrimento das concentrações que provocam efeitos letais. O conhecimento das concentrações que começam a provocar efeitos deletérios permite o desenvolvimento de acções de prevenção muito mais eficazes e defende melhor a saúde pública.

O Pb foi um grande contaminante ambiental até à introdução das chamadas “gasolinas sem chumbo” no início dos anos 90, até essa altura era conhecido o forte impacto que este contaminante tinha nos terrenos limítrofes às estradas com grande tráfego e as consequências da sua absorção a partir dos alimentos vegetais cultivados junto a essas vias de comunicação de grande tráfego.

Os efeitos nocivos do Pb na *Lactuca sativa* fazem-se sentir para concentrações muito baixas ou esta espécie é razoavelmente tolerante? Após cerca de 25 anos de proibição de adição de chumbo aos combustíveis, o impacto nos solos limítrofes às zonas de comunicação continuam altos ou atingiram níveis sem significado ecotoxicológicos por se aproximarem dos valores de efeito obtidos em solos com a concentração normal de fundo? São estas as principais questões a que se pretendia responder com este trabalho.

Verificou-se que em concentrações de até 299,70 mg/kg, o efeito estudado que é o tamanho médio do crescimento das germinações da alface lisa (*Lactuca sativa*) não é estatisticamente diferente do efeito do Pb no ensaio de controlo efectuado em solo não contaminado, sendo assim o valor da concentração mais alta que ainda não provoca efeitos (NOEC). Os ensaios demonstraram ainda que em concentrações de Pb no solo de 351,20 mg/kg, o tamanho médio das germinações já apresentou sintomas do efeito tóxico do Pb por ser estatisticamente diferente do efeito que se produziu no grupo de controlo (LOEC). O tamanho médio das germinações diminui com o aumento da concentração de Pb. De um modo geral podemos concluir que o efeito do Pb se faz sentir na *Lactuca sativa* para concentrações presentes no solo de sensivelmente as 300 e as 350 mg/kg. Para um

resultado com um intervalo mais apertado e portanto com valores de NOEC e de LOEC mais próximos, seria necessário um conjunto de ensaios suplementares apenas entre os 300 e os 350 mg/kg.

O solo recolhido junto à estrada (1 m) apresentou uma concentração de 14,0 mg de Pb por kg de Pb sendo semelhante à concentração ambiental de fundo (10-20 mg/kg), ou seja, a concentração presente naturalmente no solo. O tamanho médio das germinações neste solo apresenta um valor semelhante ao tamanho obtido para concentrações em que não se faz sentir o efeito do Pb, o que seria de esperar atendendo à concentração muito baixa de Pb nesta amostra de solo. Podemos concluir que o solo desta zona de recolha não está contaminado com Pb e que provavelmente desde que passaram a ser utilizados combustíveis sem Pb há cerca de 25 anos, a contaminação dos solos adjacentes às vias de comunicação já desceu para valores coincidentes com as concentrações ambientais de fundo. Esta descontaminação ambiental parece sustentar-se em processos de atenuação natural. O trabalho demonstra também que os valores de Pb residuais hoje libertados por acção da queima de combustível automóvel, não são suficientes para influenciar a contaminação do solo com Pb, sendo assim seguro, no que diz respeito ao Pb, o cultivo em zonas limítrofes às vias de comunicação rodoviárias, uma vez que as concentrações de Pb presentes no solo não põem em risco, na perspectiva singular deste contaminante, a qualidade dos produtos aí cultivados e consequentemente não existe risco humano no consumo de tais alimentos.

Este trabalho atingiu os objectivos a que se propunha mas poderá ter continuidade com o estudo em outros solos agrícolas de diferente granulometria e logo de diferente capacidade de adsorção de Pb. Neste trabalho o solo é bastante arenoso e pouco argiloso o que influencia dramaticamente a capacidade de adsorção de metais pesados, que neste caso é baixa por comparação com um solo mais argiloso ou siltoso. Agora que se conhecem as concentrações para as quais se começam a fazer sentir os efeitos tóxicos do Pb é possível fazer estudos mais direccionados de forma a apertar as diferenças de concentração entre os pontos finais de NOEC e de LOEC diminuindo assim distância da zona difusa onde o primeiro acaba e o segundo começa.



## 6) Bibliografia

Abreu,A.A.; Abreu, M.F.; Andrade, J.C. - Distribuição de Chumbo no perfil de solo avaliada pelas soluções de STPA e MEHLICH-3. *Bragantia*. ISSN 1678-4499 vol. 57, nº 1 Campinas. (1998)

Abou-Arab, A.A.K.; Kawther, M.S.; El Tantawy, F.; Ismael, B.R.; Khayrian, N. - Quantity estimation of some contaminants in commonly used medical plants in the Egyptian market. *Food Chem.*, v.67, p.357-363, (1999)

Abou-Arab, A.A.K.; Abou, D.M.A. - Heavy metals in Egyptian spices and medical plants and the effect of processing on their levels. *J. Agric. Food Chem.*, v. 48, p.2300-2304, (2000)

Adriano, D.C., Chlopeck, A., Kaplan DL., Vlijsters H.,Vangronsvelt J. - Soil Contamination and Remediation: Philosophy, Science and Technology. En: Prost (ed) Contaminated Soils. INRA. Paris. (1997)

Air Resouces Board - The Report on Diesel Exhaust. California Environmental protection Agency. (2008)

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) - Toxicological profile for lead. [consultado a 17/06/2015] Disponível em WWW:<URL: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp13.pdf>

Brown, Richard J. C.; Butterfield, David M.; Goddard, Sharon L.; Mustoe, Chantal L.; Robins, Chris; Brown, Andrew S.; Beccaceci, Sonya; Whiteside, Kevin J.; Bradshaw, Chris; Brennan, Stuart. - Annual Report for 2012 on the UK Heavy Metals Monitoring Network. National Physical Laboratory. Report by the National Physical Laboratory to the Department for Environment, Food and Rural Affairs, the Welsh Government, the Department of the Environment in Northern Ireland and the Scottish Government. (2013)

Busquets, E. - Elaboració dels Criteris de Qualitat de Sòls a Catalunya. Junta de Residus. Departament de medi Ambient. Generalitat de Catalunya, (1997)

BVVRHABTGG - Besluit van de Vlaamse Regering houdende Achtergrondwaarden. Bodemsaneringsnormen en Toepassingen van Gereinigde Grond. Ministry of Environment and Employment, Bruselas (Bélgica), (1995)

Cardoso, M. – Magnificação Biológica. InfoEscola. (2015) [Consultado a 15-06-2015]. Disponível em WWW:<URL: <http://www.infoescola.com/ecologia/magnificacao-biologica/>

Cheng Y *et al.* - Relation of nutrition to bone lead and blood lead levels in middle-aged to elderly men. The normative aging study. *American Journal of Epidemiology* 147(12):1162-1174, (1998)

CMAJA - Criterios y estándares para declarar un suelo contaminado en Andalucía y la metodología y técnicas de toma de muestra y análisis para su investigación. Consejería de Medio Ambiente. Junta de Andalucía, (1999)

Cristine Carole Muggler, Irene Maria Cardoso, Mauro Resende, Maurício Paulo Ferreira Fontes, Walter Antônio Pereira Abrahão, Anôr Fiorini de Carvalho - Conteúdos Básicos de Geologia e Pedologia. Universidade Federal de Viçosa, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Solos. (2005)

Cook, C.M.; Sgardelis, S.P.; Pantis, J.D. & Lanaras, T. - Concentrations of lead, zinc, and copper in *Taraxacum* spp. in relation to urban pollution. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, New York, 53:204-210, (1994).

Correia, N. – Ciências da Vida e da Terra. (2011). [consultado a 22/06/2015] Disponível em WWW:<URL: <http://cienciasdavidadaeterra25.blogspot.pt/2011/09/ciclo-das-rochas.html>

Craigmill, Arthur; Harivandi, Ali. – Home Gardens and Lead. Agriculture and Natural Resources. University of California. Publicação 8424. ISBN-13:978-1-60107-716-5, (2010). [consultado a 28/4/2015] disponível em WWW:<URL: <http://anrcatalog.ucdavis.edu/pdf/8424.pdf>

Diário da República - 1.ª Série A, Nº 126, de 31.05.1999

EKLUND, M. - Cadmium and lead deposition around a swedish battery plant as recorded in Oak tree rings. *Journal of Environmental Quality*, Madison, 24:126-131, (1995)

EPA - EPA Report on diesel emissions. (2002). [consultado a 20/06/2015] disponível em WWW:<URL: <http://www.epa.gov/ttnatw01/dieselfinal.pdf>

ExpertMinds. [consultado a 20/06/2015] Disponível em WWW:<URL: <http://www.expertsmind.com/questions/explain-the-term-pedon-and-polypedon-301104267.aspx>

Faculdade de Ciências e Tecnologia – Laboratório de Análises. Universidade Nova de Lisboa. Departamento de Química. (2015)a. [consultado a 10/07/2015] Disponível em WWW:<URL: <http://www.dq.fct.unl.pt/servicos-externos/espectroscopia-de-emissao-atmica-por-plasma-induzido-icp-aes>

Faculdade de Ciências e Tecnologia – Laboratório de Análises. Universidade Nova de Lisboa. Departamento de Química (2015)b. [consultado a 10/07/2015] Disponível em WWW:<URL: <http://www.dq.fct.unl.pt/servicos-externos/espectroscopia-de-absorcao-atmica-de-chama>

FELLENBERG, G. - Introdução aos Problemas da Poluição Ambiental - E.P.U. , São Paulo, (1980)

Fernandes, Manuel de Matos – Mecânica dos Solos vol.I. FEUP, (1994)

Filho, José Antonio Menezes; Carvalho, Wilson Andrade; Spínola, Ademário Galvão - Avaliação da exposição ocupacional ao chumbo em uma metalúrgica um estudo transversal. Rev. Brasileira de saúde ocupacional - ISSN 0303-7657 vol.28, nº.105-106 São Paulo. (2003)

GRER - Giunta Regionale dll'Emilia-Romagnan. 1183. 24/05/96. Art. 33. (1996)

Goyer R.A. - Toxic effects of metals – Lead, pp. 639-646. In Mary O. Amdur, John Dull & Curtis D. Klaassen (eds.). *Casareh and Doull's toxicology – the basic science of poisons*. Editora Pergamon Press, USA. (1991)

Hu H - Bone lead as a new biologic marker of lead dose: recent findings and implications for public health. *Environmental Health Perspectives* 106(Suppl. 4):961-967. (1998)

ICZ - Instituto de Metais Não Ferrosos - O chumbo e a indústria. (2015) [consultado a 17/06/2015] disponível em WWW:<URL: <http://www.icz.org.br>

IHOBE - Caliad del Suelo. Plan Director para la Protección del Suelo. Departamento de Urbanismo, Vivienda y Medio Ambiente. Gobierno Vasco. (1994)

ISO 17126:2005-02 (E) - Soil quality - Determination of the effects of pollutants on soil flora - Screening test for emergence of lettuce se edlings (*Lactuca sativa* L.)

Lagerweff, J.V. & Specht, A.W. - Contamination of roadside soil and vegetation with cadmium, nickel, lead and zinc. *Environmental Science & Technology*, Washington, 4:583-585, (1970)

Lima, Josanidia Santana; Gorgati, Claudia Queiroz; Santo, Alessandra Argôlo Espirito – Chumbo como agente poluidor na cadeia alimentar. 5ª Conferência Latino-Americana sobre o Meio Ambiente. Belo Horizonte, (2002) [Consultado a 17/06/2015] Disponível em WWW:<URL: [http://www.ecolatina.com.br/2002/artigos/riscos\\_ambientais/risc\\_amb\\_05.asp](http://www.ecolatina.com.br/2002/artigos/riscos_ambientais/risc_amb_05.asp)

Lippmann, Morton, ed. - Environmental Toxicants. (2009) [Consultado a 20/06/2015]  
Disponível em WWW:<URL: [http://sutlib2.sut.ac.th/sut\\_contents/55759.pdf](http://sutlib2.sut.ac.th/sut_contents/55759.pdf)

Marçal, Wilmar Sachetin; Neto, Otávio Campos; Nascimento, Marcos Roberto – Valores sanguíneos de Chumbo em bovinos Nelore suplementados com sal mineral naturalmente contaminado por Chumbo. Ciência Rural. ISSN 1678-4596. vol.28 nº1, Santa Maria. (1998)

Mineiro, A. J. C. – Mecânica dos Solos e Fundações. Universidade Nova de Lisboa. (1978)

Monteiro, P. – Diagnóstico sócio-cultural do distrito de Santarém – Estudo. Logframe, Santarém, (1985) [consultado a 25/06/2015] Disponível em WWW:<URL: <http://www.ribatejo.com/ecos/alpiarca/apgeografia.html>.

Natércia Guimarães e Augusto Medina – lições de geologia para o 7º ano liceal, (1962)

Moreira, F.R.; Moreira, J.C. - A cinética do chumbo no organismo humano e sua importância para a saúde. Ciênc. Saúde coletiva. ISSN 1678-4561. vol.9. nº.1. Rio de Janeiro. (2004)

Nautilus - Tabela periódica v2.5, Departamento de física, Universidade de Coimbra. (1999) [consultado a 17/06/2015] Disponível em WWW:<URL: <http://nautilus.fis.uc.pt/st2.5/index-pt.html>

Nestor Cezar Heck - Metalurgia Extrativa dos Metais Não-Ferrosos II-A. DEMET / UFRGS. ENG06632.

Neto, José Pereira de Queiroz – Pedologia: Conceito, Método e Aplicações. (1982)

NMHPPE - Netherlands ministry of Housing, Physical Planning and Environment. Leidschendam, Holanda. (1994)

NP-1379. Análise Granulométrica. (1976)

Okada, Isaura A.; Sakuma, Alice M.; Maio, Franca D.; Dovidauskas, Sergio; e Zenebon, Odair. - Avaliação dos níveis de chumbo e cádmio em leite em decorrência de contaminação ambiental na região do Vale do Paraíba, Sudeste do Brasil. Rev. Saúde Pública. ISSN 0034-8910. vol. 31 nº 2 São Paulo. (1997)

Oliveira, A.P.; Espinoza-Quiñones, F.R.; Módenes, A.N.; Bragião, M.E.; Bezerra, I.G.O. – Avaliação da influência do Fósforo na bioacumulação do Chumbo pela *Eichhornia crassipes*. Blucher Chemical Engineering Proceedings vol.1. nº1. (2014)

Paoliello, Monica M. B.; Chasin, Alice A. M. - Ecotoxicologia do chumbo e seus compostos – Série cadernos de Referencia Ambiental v.3. (2001)

Rosa, Manuel - Sebenta de Ecotoxicologia. Instituto Politécnico de Tomar. (2012)

Rosendahl, Stefan – Contaminação e Descontaminação de solos. Instituto Politecnico de Tomar. (2010).

Russell, John B. - Química Geral. 2ª ed. Vol2. São Paulo: Makron Books. (1994)

Sherppard SC., Gaudet C., Sherppard ML., Cureton PM y Wong MP - The Development of Assessment and Remediation Guidelines for Contaminated Soils. A review of the science. Can. J. Soil. Sci.72: 359-394. (1992)

Silva, Luis Celso; Almeida, Julio Cesar Raposo; Almeida, Ana Aparecida da Silva - Ocorrência de chumbo e zinco nos solos e plantas às margens de uma rodovia de tráfego veicular intenso. Ambiente & Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science. ISSN 1980-993X. (2013)

Sousa, E.; Rocha, P.; Milheiro, P. – Chumbo. Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto. (2014) [consultado a 17/06/2015] Disponível em WWW:<URL: <http://chumbotoxi0.wix.com/chumbo2014>

Standard Methods – METHOD 3050B. 2ª revisão. (1996)

Tabela Periódica v2.5 – Chumbo. Universidade de Coimbra. Departamento de Física [consultado a 17/06/2015] Disponível em WWW:<URL: <http://nautilus.fis.uc.pt/>

Tsalev, D.L. & Zaprianov, Z.K. - Lead, pp. 137-150. In *Atomic absorption spectrometry in occupational and environmental health practice*. CRC Press, Flórida. (1985)

Tsuchiya, K. - Lead, in: Friberg, L., Nordberg, g. f., and Vouk, V.B (eds.): Handbook on the Toxicology of Metals, Vol. II, pp. 298-353. Elsevier, Amsterdam-New York- Oxford. (1986)



Vogel, A.R.; Mendham, J.; Denney, R.C.; Barnes, J.D.; Thomas, M. - Análise Química Quantitativa. 6ª edição. Editora LTC. (2002)

Vulcano, I.R.C.; Silveira, J.N.; Alvarez-Leite, E.M. - Teores de chumbo e cádmio em chás comercializados na região metropolitana de Belo Horizonte. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. ISSN 1516-9332. vol.44. nº3. São Paulo. (2008)

Wikipédia, 2015. [consultado a 15/05/2015] Disponível em WWW:<URL: <https://pt.wikipedia.org/wiki/Chumbo>

Wikipédia, 2014. [consultado a 15/05/2015] Disponível em WWW:<URL: <https://pt.wikipedia.org/wiki/Tetraetilchumbo>

Yip, Theo C.M.; Tsang, Daniel C.W.; Ng, Kelvin T.W.; Lo, Irene M.C. - Empirical modeling of heavy metal extraction by EDDS from single-metal and multi-metal contaminated soils. Chemosphere 74. (2009)



## 7) Anexos

### Anexo A

- **Cálculos para a preparação das soluções de contaminação dos solos**

Para a contaminação artificial de solo com Pb, foi utilizado o  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ , tendo sido feitas 20 soluções contaminantes. Em primeiro lugar por experimentação determinei que 20 g de solo, seria a massa deste, utilizado em cada caixa de petri e que iria fazer 6 repetições para cada concentração de contaminante, perfazendo 120 g, mas como por algum motivo poderia ser necessário repetir o ensaio esta massa foi duplicada perfazendo 240 g que por sua vez arredou-se para 300 g uma vez que no processo de decantação do líquido contaminante do solo, perde-se sempre alguma massa. Para a contaminação das 300 g de solo foram usadas soluções contaminantes em que cada uma continha um volume de 1500 mL. Para a elaboração das soluções contaminantes, foi feita uma solução mãe, sendo esta a solução de maior concentração de chumbo, e as outras, feitas a partir de diluições da solução mãe.

- Exemplo para a solução contaminante de 1500 mg/L de Pb

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$2000 \times V_1 = 1500 \times 1500$$

$$V_1 = 1125 \text{ mL de solução mãe}$$

**Tabela com as quantidades necessárias de solução mãe e de água destilada para fazer as soluções contaminantes.**

<b>Concentração da solução contaminante</b>	<b>Volume medido de solução mãe</b>	<b>Volume de água destilada medido para preparar 1500 mL</b>
<b>(mg/L)</b>	<b>(mL)</b>	<b>(mL)</b>
<b>2000</b>	1500	0
<b>1500</b>	1125	375
<b>1000</b>	750	750
<b>500</b>	375	1125
<b>100</b>	75	1425
<b>80</b>	60	1440
<b>60</b>	45	1455
<b>40</b>	30	1470
<b>20</b>	15	1485
<b>10</b>	7,5	1492,5
<b>8</b>	6	1494
<b>6</b>	4,5	1495,5
<b>4</b>	3	1497
<b>2</b>	1,5	1498,5
<b>1</b>	0,75	1499,25
<b>0,8</b>	0,6	1499,40
<b>0,6</b>	0,45	1499,55
<b>0,4</b>	0,30	1499,70
<b>0,2</b>	0,15	1499,85
<b>0,1</b>	0,075	1499,925
<b>total</b>	<b>≈ 4000 mL</b>	

Foram preparados 5000 mL de solução mãe, com 2000 mg/L de Pb.

$$2 \text{ g/L} = 2000 \text{ mg/L}$$

$$1 \text{ mol de Pb(NO}_3)_2 \text{-----} 331,208 \text{ g}$$

$$\text{Pb} \text{-----} 207,2 \text{ g}$$

$$331,208 \text{ g de Pb(NO}_3)_2 \text{-----} 207,2 \text{ g de Pb}$$

$$X \text{-----} 2 \text{ g}$$

$$X=3,1970 \text{ g}$$

Os 3,1970 g é a quantidade necessária de  $\text{Pb(NO}_3)_2$  para preparar uma solução de 1 L com uma concentração de 2000 mg/L de Pb. Para os 5 L foram então utilizados 15,985 g de  $\text{Pb(NO}_3)_2$ .



## **Anexo B**

- **Cálculo da preparação dos padrões para a análise do teor de Pb no solo por AAS e conversão da concentração lida na solução em concentração no solo**

Foram feitos 20 padrões com concentrações diferentes de Pb e com volumes de 50 mL. Para isto foi feita uma solução mãe com uma concentração de 2000 mg/L em Pb, utilizando Nitrato de Pb.

$$2 \text{ g/L} = 2000 \text{ mg/L}$$

$$1 \text{ mol de Pb(NO}_3)_2 \text{-----} 331,208 \text{ g}$$

$$\text{Pb-----} 207,2 \text{ g}$$

$$331,208 \text{ g de Pb(NO}_3)_2 \text{-----} 207,2 \text{ g de Pb}$$

$$X \text{-----} 2 \text{ g}$$

$$X=3,1970 \text{ g}$$

As 3,1970 g são a quantidade necessária de  $\text{Pb(NO}_3)_2$  para preparar uma solução de 1 L com uma concentração de 2000 mg/L em Pb.

Para preparar a solução mãe foram pesados 3,1970 g de  $\text{Pb(NO}_3)_2$  e adicionaram-se 10 mL de  $\text{HNO}_3$ , 10 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 10 mL de  $\text{HCl}$  e água destilada até perfazer 1 L, sendo esta solução o primeiro padrão. Os padrões seguintes foram feitos por diluições da solução mãe.

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

Sendo:

C a concentração

V o volume.

- Padrão 1500 mg/L de Pb (50mL)

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$2000 \times V_1 = 1500 \times 50$$

$$V_1 = 37,5 \text{ mL de solução mãe}$$

Aos 37,5 mL se solução mãe adiciona água destilada até perfazer os 50 mL.

**Tabela de concentrações dos padrões, volumes de solução mãe necessários**

Padrões em mg/L de Pb	Volume de solução mãe medido para prepara os padrões de 50 mL
	(mL)
1000	25
500	12,5
100	2,5
80	2
60	1,5
40	1
20	0,5
10	0,25
8	0,2
6	0,15
4	0,1
2	0,05
1	0,025
0,8	0,02
0,6	0,015
0,4	0,01
0,2	0,005
0,1	0,0025



Exemplo de cálculo da concentração (mg/kg) do Pb no solo artificialmente contaminado a partir da concentração (mg/L) do Pb extraído do solo e determinado por Absorção atômica de chama.

Concentração de Pb na solução, determinada por AA: 84,468 mg/L

Massa de solo sujeita à extração do Pb por digestão: 1 g (1000 mg)

Volume total de solução de Pb para análise por AA: 100 mL

1000 mL ----- 84,468 mg

100 mL -----x

x=8,4468 mg de Pb em 100 mL de solução de extraída

Como estas 8,4468 mg de Pb estavam contidas em 1 g de solo a conversão termina com o cálculo da concentração de Pb em 1 kg (1000 g)

1 g ----- 8,4469 mg

1000 g ----- x

x=8446,8 mg em 1000 g de solo ou seja em cada quilograma.



## Anexo C

### • Tabela de valores críticos do teste F para $p=0,05$

Valores de F ( $p=0,05$ )

$\frac{GL_1}{GL_2}$	$\frac{GL_1}{GL_2}$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	22	24	26	28	30	35	40	45	50	60	70	80	100	200	500	1000	>1000	$GL_1/GL_2$
3	10,13	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,89	8,85	8,81	8,79	8,76	8,74	8,73	8,71	8,70	8,69	8,68	8,67	8,67	8,66	8,65	8,64	8,63	8,62	8,62	8,60	8,59	8,59	8,58	8,57	8,57	8,56	8,55	8,54	8,53	8,53	8,54	3	
4	7,71	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,09	6,04	6,00	5,96	5,94	5,91	5,89	5,87	5,86	5,84	5,83	5,82	5,81	5,80	5,79	5,77	5,76	5,75	5,75	5,73	5,72	5,71	5,70	5,69	5,68	5,67	5,66	5,65	5,64	5,63	5,63	4	
5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,88	4,82	4,77	4,74	4,70	4,68	4,66	4,64	4,62	4,60	4,59	4,58	4,57	4,56	4,54	4,53	4,52	4,50	4,50	4,48	4,46	4,45	4,44	4,43	4,42	4,42	4,41	4,39	4,37	4,37	4,36	5	
6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,21	4,15	4,10	4,06	4,03	4,00	3,98	3,96	3,94	3,92	3,91	3,90	3,88	3,87	3,86	3,84	3,83	3,82	3,81	3,79	3,77	3,76	3,75	3,74	3,73	3,72	3,71	3,69	3,68	3,67	3,67	6	
7	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,79	3,73	3,68	3,64	3,60	3,57	3,55	3,53	3,51	3,49	3,48	3,47	3,46	3,44	3,43	3,41	3,40	3,39	3,38	3,36	3,34	3,33	3,32	3,30	3,29	3,29	3,27	3,25	3,24	3,23	3,23	7	
8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,50	3,44	3,39	3,35	3,31	3,28	3,26	3,24	3,22	3,20	3,19	3,17	3,16	3,15	3,13	3,12	3,10	3,09	3,08	3,06	3,04	3,03	3,02	3,01	2,99	2,99	2,97	2,95	2,94	2,93	2,93	8	
9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,29	3,23	3,18	3,14	3,10	3,07	3,05	3,03	3,01	2,99	2,97	2,96	2,95	2,94	2,92	2,90	2,89	2,87	2,86	2,84	2,83	2,81	2,80	2,79	2,78	2,77	2,76	2,73	2,72	2,71	2,71	9	
10	4,96	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,14	3,07	3,02	2,98	2,94	2,91	2,89	2,86	2,85	2,83	2,81	2,80	2,79	2,77	2,75	2,74	2,72	2,71	2,70	2,68	2,66	2,65	2,64	2,62	2,61	2,60	2,59	2,56	2,55	2,54	2,54	10	
11	4,84	3,98	3,59	3,36	3,20	3,09	3,01	2,95	2,90	2,85	2,82	2,79	2,76	2,74	2,72	2,70	2,69	2,67	2,66	2,65	2,63	2,61	2,59	2,58	2,57	2,55	2,53	2,52	2,51	2,49	2,48	2,47	2,46	2,43	2,42	2,41	2,41	11	
12	4,75	3,89	3,49	3,26	3,11	3,00	2,91	2,85	2,80	2,75	2,72	2,69	2,66	2,64	2,62	2,60	2,58	2,57	2,56	2,54	2,52	2,51	2,49	2,48	2,47	2,44	2,43	2,41	2,40	2,38	2,37	2,36	2,35	2,32	2,31	2,30	2,30	12	
13	4,67	3,81	3,41	3,18	3,03	2,92	2,83	2,77	2,71	2,67	2,63	2,60	2,58	2,55	2,53	2,51	2,50	2,48	2,47	2,46	2,44	2,42	2,41	2,39	2,38	2,36	2,34	2,33	2,31	2,30	2,28	2,27	2,26	2,23	2,22	2,21	2,21	13	
14	4,60	3,74	3,34	3,11	2,96	2,85	2,76	2,70	2,65	2,60	2,57	2,53	2,51	2,48	2,46	2,44	2,43	2,41	2,40	2,39	2,37	2,35	2,33	2,32	2,31	2,28	2,27	2,25	2,24	2,22	2,21	2,20	2,19	2,16	2,14	2,14	2,13	14	
15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,71	2,64	2,59	2,54	2,51	2,48	2,45	2,42	2,40	2,38	2,37	2,35	2,34	2,33	2,31	2,29	2,27	2,26	2,25	2,22	2,20	2,19	2,18	2,16	2,15	2,14	2,12	2,10	2,08	2,07	2,07	15	
16	4,49	3,63	3,24	3,01	2,85	2,74	2,66	2,59	2,54	2,49	2,46	2,42	2,40	2,37	2,35	2,33	2,32	2,30	2,29	2,28	2,25	2,24	2,22	2,21	2,19	2,17	2,15	2,14	2,12	2,11	2,09	2,08	2,07	2,04	2,02	2,02	2,01	16	
17	4,45	3,59	3,20	2,96	2,81	2,70	2,61	2,55	2,49	2,45	2,41	2,38	2,35	2,33	2,31	2,29	2,27	2,26	2,24	2,23	2,21	2,19	2,17	2,16	2,15	2,12	2,10	2,09	2,08	2,06	2,05	2,04	2,02	2,00	1,99	1,97	1,97	1,96	17
18	4,41	3,55	3,16	2,93	2,77	2,66	2,58	2,51	2,46	2,41	2,37	2,34	2,31	2,29	2,27	2,25	2,23	2,22	2,20	2,19	2,17	2,15	2,13	2,12	2,11	2,08	2,06	2,05	2,04	2,02	2,00	1,99	1,98	1,95	1,93	1,92	1,92	18	
19	4,38	3,52	3,13	2,90	2,74	2,63	2,54	2,48	2,42	2,38	2,34	2,31	2,28	2,26	2,23	2,21	2,20	2,18	2,17	2,16	2,13	2,11	2,10	2,08	2,07	2,05	2,03	2,01	2,00	1,98	1,97	1,96	1,94	1,91	1,89	1,88	1,88	19	
20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,51	2,45	2,39	2,35	2,31	2,28	2,25	2,23	2,20	2,18	2,17	2,15	2,14	2,12	2,10	2,08	2,07	2,05	2,04	2,01	1,99	1,98	1,97	1,95	1,93	1,92	1,91	1,88	1,86	1,85	1,84	20	
22	4,30	3,44	3,05	2,82	2,66	2,55	2,46	2,40	2,34	2,30	2,26	2,23	2,20	2,17	2,15	2,13	2,11	2,10	2,08	2,07	2,05	2,03	2,01	2,00	1,98	1,96	1,94	1,92	1,91	1,89	1,88	1,86	1,85	1,82	1,80	1,79	1,78	22	
24	4,26	3,40	3,01	2,78	2,62	2,51	2,42	2,36	2,30	2,25	2,22	2,18	2,15	2,13	2,11	2,09	2,07	2,05	2,04	2,03	2,00	1,98	1,97	1,95	1,94	1,91	1,89	1,88	1,86	1,84	1,83	1,82	1,80	1,77	1,75	1,74	1,73	24	
26	4,23	3,37	2,98	2,74	2,59	2,47	2,39	2,32	2,27	2,22	2,18	2,15	2,12	2,09	2,07	2,05	2,03	2,02	2,00	1,99	1,97	1,95	1,93	1,91	1,90	1,87	1,85	1,84	1,82	1,80	1,79	1,78	1,76	1,73	1,71	1,70	1,69	26	
28	4,20	3,34	2,95	2,71	2,56	2,45	2,36	2,29	2,24	2,19	2,15	2,12	2,09	2,06	2,04	2,02	2,00	1,99	1,97	1,96	1,93	1,91	1,90	1,88	1,87	1,84	1,82	1,80	1,79	1,77	1,75	1,74	1,73	1,69	1,67	1,66	1,66	28	
30	4,17	3,32	2,92	2,69	2,53	2,42	2,33	2,27	2,21	2,16	2,13	2,09	2,06	2,04	2,01	1,99	1,98	1,96	1,95	1,93	1,91	1,89	1,87	1,85	1,84	1,81	1,79	1,77	1,76	1,74	1,72	1,71	1,70	1,66	1,64	1,63	1,62	30	
35	4,12	3,27	2,87	2,64	2,49	2,37	2,29	2,22	2,16	2,11	2,08	2,04	2,01	1,99	1,96	1,94	1,92	1,91	1,89	1,88	1,85	1,83	1,82	1,80	1,79	1,76	1,74	1,72	1,70	1,68	1,66	1,65	1,63	1,60	1,57	1,57	1,56	35	
40	4,08	3,23	2,84	2,61	2,45	2,34	2,25	2,18	2,12	2,08	2,04	2,00	1,97	1,95	1,92	1,90	1,89	1,87	1,85	1,84	1,81	1,79	1,77	1,76	1,74	1,72	1,69	1,67	1,66	1,64	1,62	1,61	1,59	1,55	1,53	1,52	1,51	40	
45	4,06	3,20	2,81	2,58	2,42	2,31	2,22	2,15	2,10	2,05	2,01	1,97	1,94	1,92	1,89	1,87	1,86	1,84	1,82	1,81	1,78	1,76	1,74	1,73	1,71	1,68	1,66	1,64	1,63	1,60	1,59	1,57	1,55	1,51	1,49	1,48	1,47	45	
50	4,03	3,18	2,79	2,56	2,40	2,29	2,20	2,13	2,07	2,03	1,99	1,95	1,92	1,89	1,87	1,85	1,83	1,81	1,80	1,78	1,76	1,74	1,72	1,70	1,69	1,66	1,63	1,61	1,60	1,58	1,56	1,54	1,52	1,48	1,46	1,45	1,44	50	
60	4,00	3,15	2,76	2,53	2,37	2,25	2,17	2,10	2,04	1,99	1,95	1,92	1,89	1,86	1,84	1,82	1,80	1,78	1,76	1,75	1,72	1,70	1,68	1,66	1,65	1,62	1,59	1,57	1,56	1,53	1,52	1,50	1,48	1,44	1,41	1,40	1,39	60	
70	3,98	3,13	2,74	2,50	2,35	2,23	2,14	2,07	2,02	1,97	1,93	1,89	1,86	1,84	1,81	1,79	1,77	1,75	1,74	1,72	1,70	1,67	1,65	1,64	1,62	1,59	1,57	1,55	1,53	1,50	1,49	1,47	1,45	1,40	1,37	1,36	1,35	70	
80	3,96	3,11	2,72	2,49	2,33	2,21	2,13	2,06	2,00	1,95	1,91	1,88	1,84	1,82	1,79	1,77	1,75	1,73	1,72	1,70	1,68	1,65	1,63	1,62	1,60	1,57	1,54	1,52	1,51	1,48	1,46	1,45	1,43	1,38	1,35	1,34	1,33	80	
500	3,86	3,01	2,62	2,39	2,23	2,12	2,03	1,96	1,90	1,85	1,81	1,77	1,74	1,71	1,69	1,66	1,64	1,62	1,61	1,59	1,56	1,54	1,52	1,50	1,48	1,45	1,42	1,40	1,38	1,35	1,32	1,30	1,28	1,21	1,16	1,14	1,12	500	
1000	3,85	3,00	2,61	2,38	2,22	2,11	2,02	1,95	1,89	1,84	1,80	1,76	1,73	1,70	1,68	1,65	1,63	1,61	1,60	1,58	1,55	1,53	1,51	1,49	1,47	1,43	1,41	1,38	1,36	1,33	1,31	1,29	1,26	1,19	1,13	1,11	1,08	1000	
>1000	1,04	3,00	2,61	2,37	2,21	2,10	2,01	1,94	1,88	1,83	1,79	1,75	1,72	1,69	1,67	1,64	1,62	1,61	1,59	1,57	1,54	1,52	1,50	1,48	1,46	1,42	1,40	1,37	1,35	1,32	1,30	1,28	1,25	1,17	1,11	1,08	1,03	>1000	
$GL_1/GL_2$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	22	24	26	28	30	35	40	45	50	60	70								



## **Anexo D**

- **Tabela de valores críticos do teste  $\chi^2$**

<b>GL</b>	<b>P =</b>	<b>P = 0.01</b>	<b>P =</b>
<b>1</b>	3.84	6.64	10.83
<b>2</b>	5.99	9.21	13.82
<b>3</b>	7.82	11.35	16.27
<b>4</b>	9.49	13.28	18.47
<b>5</b>	11.07	15.09	20.52
<b>6</b>	12.59	16.81	22.46
<b>7</b>	14.07	18.48	24.32
<b>8</b>	15.51	20.09	26.13
<b>9</b>	16.92	21.67	27.88
<b>10</b>	18.31	23.21	29.59
<b>11</b>	19.68	24.73	31.26
<b>12</b>	21.03	26.22	32.91
<b>13</b>	22.36	27.69	34.53
<b>14</b>	23.69	29.14	36.12
<b>15</b>	25.00	30.58	37.70
<b>16</b>	26.30	32.00	39.25
<b>17</b>	27.59	33.41	40.79
<b>18</b>	28.87	34.81	42.31
<b>19</b>	30.14	36.19	43.82
<b>20</b>	31.41	37.57	45.32
<b>21</b>	32.67	38.93	46.80
<b>22</b>	33.92	40.29	48.27
<b>23</b>	35.17	41.64	49.73
<b>24</b>	36.42	42.98	51.18
<b>25</b>	37.65	44.31	52.62
<b>26</b>	38.89	45.64	54.05
<b>27</b>	40.11	46.96	55.48
<b>28</b>	41.34	48.28	56.89
<b>29</b>	42.56	49.59	58.30
<b>30</b>	43.77	50.89	59.70
<b>31</b>	44.99	52.19	61.10
<b>32</b>	46.19	53.49	62.49
<b>33</b>	47.40	54.78	63.87
<b>34</b>	48.60	56.06	65.25
<b>35</b>	49.80	57.34	66.62
<b>36</b>	51.00	58.62	67.99
<b>37</b>	52.19	59.89	69.35
<b>38</b>	53.38	61.16	70.71
<b>39</b>	54.57	62.43	72.06
<b>40</b>	55.76	63.69	73.41
<b>41</b>	56.94	64.95	74.75
<b>42</b>	58.12	66.21	76.09
<b>43</b>	59.30	67.46	77.42
<b>44</b>	60.48	68.71	78.75
<b>45</b>	61.66	69.96	80.08
<b>46</b>	62.83	71.20	81.40
<b>47</b>	64.00	72.44	82.72
<b>48</b>	65.17	73.68	84.03
<b>49</b>	66.34	74.92	85.35
<b>50</b>	67.51	76.15	86.66
<b>51</b>	68.67	77.39	87.97

Avaliação do potencial de inibição de germinação causado pelo Chumbo depositado em terrenos limítrofes às vias de  
comunicação rodoviárias

52	69.83	78.62	89.27
53	70.99	79.84	90.57
54	72.15	81.07	91.88
55	73.31	82.29	93.17
56	74.47	83.52	94.47
57	75.62	84.73	95.75
58	76.78	85.95	97.03
59	77.93	87.17	98.34
60	79.08	88.38	99.62
61	80.23	89.59	100.88
62	81.38	90.80	102.15
63	82.53	92.01	103.46
64	83.68	93.22	104.72
65	84.82	94.42	105.97
66	85.97	95.63	107.26
67	87.11	96.83	108.54
68	88.25	98.03	109.79
69	89.39	99.23	111.06
70	90.53	100.42	112.31
71	91.67	101.62	113.56
72	92.81	102.82	114.84
73	93.95	104.01	116.08
74	95.08	105.20	117.35
75	96.22	106.39	118.60
76	97.35	107.58	119.85
77	98.49	108.77	121.11
78	99.62	109.96	122.36
79	100.75	111.15	123.60
80	101.88	112.33	124.84
81	103.01	113.51	126.09
82	104.14	114.70	127.33
83	105.27	115.88	128.57
84	106.40	117.06	129.80
85	107.52	118.24	131.04
86	108.65	119.41	132.28
87	109.77	120.59	133.51
88	110.90	121.77	134.74
89	112.02	122.94	135.96
90	113.15	124.12	137.19
91	114.27	125.29	138.45
92	115.39	126.46	139.66
93	116.51	127.63	140.90
94	117.63	128.80	142.12
95	118.75	129.97	143.32
96	119.87	131.14	144.55
97	120.99	132.31	145.78
98	122.11	133.47	146.99
99	123.23	134.64	148.21
100	124.34	135.81	149.48

## Anexo E

- Coeficientes N-i+1 (Prova de Shapiro-Wilk)

i\N	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0,7071	0,7071	0,6872	0,6646	0,643	0,623	0,605	0,589	0,574
2	-	0	0,1667	0,2413	0,281	0,303	0,316	0,324	0,329
3	-	-	-	0	0,088	0,14	0,174	0,198	0,214
4	-	-	-	-	-	0	0,056	0,095	0,122
5	-	-	-	-	-	-	-	0	0,04

N – nº total de observações

i\N	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	0,5601	0,5475	0,5359	0,5251	0,515	0,506	0,497	0,489	0,481	0,473
2	0,3315	0,3325	0,3325	0,3318	0,331	0,329	0,327	0,325	0,323	0,321
3	0,226	0,2347	0,2412	0,246	0,25	0,252	0,254	0,255	0,256	0,257
4	0,1429	0,1586	0,1707	0,1802	0,188	0,194	0,199	0,203	0,206	0,209
5	0,0695	0,0922	0,1099	0,124	0,135	0,145	0,152	0,159	0,164	0,169
6	0	0,0303	0,0539	0,0727	0,088	0,101	0,111	0,12	0,127	0,133
7	-	-	0	0,024	0,043	0,059	0,073	0,084	0,093	0,103
8	-	-	-	-	0	0,02	0,036	0,05	0,061	0,071
9	-	-	-	-	-	-	0	0,016	0,03	0,042
10	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0,014

i\N	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
1	0,4643	0,459	0,4542	0,4493	0,445	0,441	0,437	0,433	0,429	0,425
2	0,3185	0,3156	0,3126	0,3098	0,307	0,304	0,302	0,299	0,297	0,294
3	0,2578	0,2571	0,2563	0,2554	0,254	0,253	0,252	0,251	0,25	0,249
4	0,2119	0,2131	0,2139	0,2145	0,215	0,215	0,215	0,215	0,215	0,215
5	0,1736	0,1764	0,1787	0,1807	0,182	0,184	0,185	0,186	0,186	0,187
6	0,1399	0,1443	0,148	0,1512	0,154	0,156	0,158	0,16	0,162	0,163
7	0,1092	0,115	0,1201	0,1245	0,128	0,132	0,135	0,137	0,14	0,142
8	0,0804	0,0878	0,0941	0,0997	0,105	0,109	0,113	0,116	0,119	0,122
9	0,053	0,0618	0,0696	0,0764	0,082	0,088	0,092	0,097	0,1	0,104
10	0,0263	0,0368	0,0459	0,0539	0,061	0,067	0,073	0,078	0,082	0,086
11	0	0,0122	0,0228	0,0321	0,04	0,048	0,054	0,06	0,065	0,07
12	-	-	0	0,0107	0,02	0,028	0,036	0,042	0,048	0,054
13	-	-	-	-	0	0,009	0,018	0,025	0,032	0,038
14	-	-	-	-	-	-	0	0,008	0,016	0,023
15	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0,008

Avaliação do potencial de inibição de germinação causado pelo Chumbo depositado em terrenos limítrofes às vias de  
comunicação rodoviárias

<i>i\N</i>	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
1	0,422	0,4188	0,4156	0,4127	0,4096	0,407	0,404	0,402	0,399	0,396
2	0,2921	0,2898	0,2876	0,2854	0,283	0,281	0,279	0,277	0,276	0,274
3	0,2475	0,2462	0,2451	0,2439	0,243	0,242	0,24	0,239	0,238	0,237
4	0,2145	0,2141	0,2137	0,2132	0,213	0,211	0,212	0,211	0,21	0,21
5	0,1874	0,1878	0,188	0,1882	0,188	0,188	0,188	0,188	0,188	0,188
6	0,1641	0,1651	0,166	0,1667	0,167	0,168	0,168	0,169	0,169	0,169
7	0,1433	0,1449	0,1463	0,1475	0,149	0,15	0,151	0,151	0,152	0,153
8	0,1243	0,1265	0,1294	0,1301	0,132	0,133	0,134	0,136	0,137	0,138
9	0,1066	0,1093	0,1118	0,114	0,116	0,118	0,12	0,121	0,123	0,124
10	0,0899	0,0931	0,0961	0,0988	0,101	0,104	0,106	0,108	0,109	0,111
11	0,0739	0,0777	0,0812	0,0844	0,087	0,09	0,092	0,095	0,097	0,099
12	0,0585	0,0629	0,0669	0,0706	0,074	0,077	0,08	0,082	0,085	0,087
13	0,0435	0,0485	0,053	0,0572	0,061	0,065	0,068	0,071	0,073	0,076
14	0,0289	0,0349	0,0395	0,0441	0,048	0,052	0,056	0,059	0,062	0,061
15	0,0144	0,0206	0,0262	0,0314	0,036	0,04	0,044	0,048	0,052	0,055
16	0	0,0068	0,0131	0,0187	0,024	0,029	0,033	0,037	0,041	0,044
17	-	-	0	0,0062	0,012	0,017	0,022	0,026	0,031	0,034
18	-	-	-	-	0	0,006	0,011	0,016	0,02	0,024
19	-	-	-	-	-	-	0	0,005	0,01	0,015
20	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0,005



**Avaliação do potencial de inibição de germinação causado pelo Chumbo depositado em terrenos limítrofes às vias de comunicação rodoviárias**

<b>i\N</b>	<b>41</b>	<b>42</b>	<b>43</b>	<b>44</b>	<b>45</b>	<b>46</b>	<b>47</b>	<b>48</b>	<b>49</b>	<b>50</b>
1	0,394	0,3917	0,3894	0,3872	0,385	0,383	0,381	0,379	0,377	0,375
2	0,2719	0,2701	0,2684	0,2667	0,265	0,264	0,262	0,26	0,259	0,257
3	0,2357	0,2345	0,2334	0,2323	0,231	0,23	0,229	0,228	0,227	0,226
4	0,2091	0,2085	0,2078	0,2072	0,207	0,206	0,205	0,205	0,204	0,203
5	0,1876	0,1874	0,1871	0,1868	0,187	0,186	0,186	0,186	0,185	0,185
6	0,1693	0,1694	0,1695	0,1695	0,17	0,17	0,17	0,169	0,169	0,169
7	0,1531	0,1535	0,1539	0,1542	0,155	0,155	0,155	0,155	0,155	0,155
8	0,1384	0,1392	0,1398	0,1405	0,141	0,142	0,142	0,142	0,143	0,143
9	0,1249	0,1259	0,1269	0,1278	0,129	0,129	0,13	0,131	0,131	0,132
10	0,1123	0,1136	0,1149	0,116	0,117	0,118	0,119	0,12	0,121	0,121
11	0,1004	0,102	0,1035	0,1049	0,106	0,107	0,109	0,11	0,111	0,111
12	0,0891	0,0909	0,0927	0,0943	0,096	0,097	0,099	0,1	0,101	0,102
13	0,0782	0,0804	0,0824	0,0842	0,086	0,088	0,089	0,091	0,092	0,093
14	0,0677	0,0701	0,0724	0,0745	0,077	0,078	0,08	0,082	0,083	0,085
15	0,0575	0,0602	0,0628	0,0651	0,067	0,069	0,071	0,073	0,075	0,076
16	0,0476	0,0506	0,0534	0,056	0,058	0,061	0,063	0,648	0,067	0,069
17	0,0379	0,0411	0,0442	0,0471	0,05	0,052	0,055	0,057	0,059	0,061
18	0,0283	0,0318	0,0352	0,0383	0,041	0,044	0,047	0,049	0,051	0,053
19	0,0188	0,0227	0,0263	0,0296	0,033	0,036	0,039	0,041	0,044	0,046
20	0,0094	0,0136	0,0175	0,0211	0,025	0,028	0,031	0,034	0,036	0,039
21	0	0,0045	0,0087	0,0126	0,016	0,02	0,023	0,026	0,029	0,031
22	-	-	0	0,0042	0,008	0,012	0,015	0,019	0,022	0,024
23	-	-	-	-	0	0,004	0,008	0,011	0,014	0,017
24	-	-	-	-	-	-	0	0,004	0,007	0,01
25	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0,004



## **Anexo F**

- Coeficientes W (Prova de Shapiro-Wilk)**

<b>N<sub>p</sub></b>	<b>0,01</b>	<b>0,02</b>	<b>0,05</b>	<b>0,1</b>	<b>0,5</b>	<b>0,9</b>	<b>0,95</b>	<b>0,98</b>	<b>0,99</b>
3	0,753	0,756	0,767	0,789	0,959	0,998	0,999	1	1
4	0,687	0,707	0,748	0,792	0,935	0,987	0,992	0,996	0,997
5	0,686	0,715	0,762	0,806	0,927	0,979	0,986	0,991	0,993
6	0,713	0,743	0,788	0,826	0,927	0,974	0,981	0,986	0,989
7	0,73	0,76	0,803	0,838	0,928	0,972	0,979	0,985	0,988
8	0,749	0,778	0,818	0,851	0,932	0,972	0,978	0,984	0,987
9	0,764	0,791	0,829	0,859	0,935	0,972	0,978	0,984	0,986
10	0,781	0,806	0,842	0,869	0,938	0,972	0,978	0,983	0,986
11	0,792	0,817	0,85	0,876	0,94	0,973	0,979	0,984	0,986
12	0,805	0,828	0,859	0,883	0,943	0,973	0,979	0,984	0,986
13	0,814	0,837	0,866	0,889	0,945	0,974	0,979	0,984	0,986
14	0,825	0,846	0,874	0,895	0,947	0,975	0,98	0,984	0,986
15	0,835	0,855	0,881	0,901	0,95	0,975	0,98	0,984	0,987
16	0,844	0,863	0,887	0,906	0,952	0,976	0,981	0,985	0,987
17	0,851	0,869	0,892	0,91	0,954	0,977	0,981	0,985	0,987
18	0,858	0,874	0,897	0,914	0,956	0,978	0,982	0,986	0,988
19	0,863	0,879	0,901	0,917	0,957	0,978	0,982	0,986	0,988
20	0,868	0,884	0,905	0,92	0,959	0,979	0,983	0,986	0,988
21	0,873	0,888	0,908	0,923	0,96	0,98	0,983	0,987	0,989
22	0,878	0,892	0,911	0,926	0,961	0,98	0,984	0,987	0,989
23	0,881	0,895	0,914	0,928	0,962	0,981	0,984	0,987	0,989
24	0,884	0,898	0,916	0,93	0,963	0,981	0,984	0,987	0,989
25	0,888	0,901	0,918	0,931	0,964	0,981	0,985	0,988	0,989
26	0,891	0,904	0,92	0,933	0,965	0,982	0,985	0,988	0,989
27	0,894	0,906	0,923	0,935	0,965	0,982	0,985	0,988	0,99
28	0,866	0,908	0,924	0,936	0,966	0,982	0,985	0,988	0,99
29	0,898	0,91	0,926	0,937	0,966	0,982	0,985	0,988	0,99
30	0,9	0,912	0,927	0,939	0,967	0,983	0,985	0,988	0,99
31	0,902	0,914	0,929	0,94	0,967	0,983	0,986	0,988	0,99
32	0,904	0,915	0,93	0,941	0,968	0,983	0,986	0,988	0,99
33	0,906	0,917	0,931	0,942	0,968	0,983	0,986	0,989	0,99
34	0,908	0,919	0,933	0,943	0,969	0,983	0,986	0,989	0,99
35	0,91	0,92	0,934	0,944	0,969	0,984	0,986	0,989	0,99
36	0,912	0,922	0,935	0,945	0,97	0,984	0,986	0,989	0,99
37	0,914	0,924	0,936	0,946	0,97	0,984	0,987	0,989	0,99
38	0,916	0,925	0,938	0,947	0,971	0,984	0,987	0,989	0,99
39	0,917	0,927	0,939	0,948	0,971	0,984	0,987	0,989	0,991
40	0,919	0,928	0,94	0,949	0,972	0,985	0,987	0,989	0,991
41	0,92	0,929	0,941	0,95	0,972	0,985	0,997	0,989	0,991
42	0,922	0,93	0,942	0,951	0,972	0,985	0,987	0,989	0,991
43	0,923	0,932	0,943	0,951	0,973	0,985	0,987	0,99	0,991
44	0,924	0,933	0,944	0,952	0,973	0,985	0,987	0,99	0,991
45	0,926	0,934	0,945	0,953	0,973	0,985	0,988	0,99	0,991
46	0,927	0,936	0,945	0,953	0,974	0,985	0,988	0,99	0,991
47	0,928	0,936	0,946	0,954	0,974	0,985	0,988	0,99	0,991
48	0,929	0,937	0,947	0,954	0,974	0,985	0,988	0,99	0,991
49	0,929	0,937	0,947	0,955	0,974	0,986	0,988	0,99	0,991
50	0,93	0,933	0,947	0,955	0,974	0,985	0,988	0,99	0,991

N-nº total de observações